

Раздел III ЛИНЕЙНЫЕ ЖИВОТНЫЕ-БИОМОДЕЛИ

Среди Ротшильдов начало инбридингу положил Джеймс, младший сын Мейера, женившись в 1824 году на дочери своего брата. Через шестьдесят лет после смерти основателя династии «коэффициент инбридинга» составлял 0,07, а он сам стал источником обеих аллелей в 6% генных локусов всех своих праправнуков.

Р. Коннифф

Глава 8 ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Многие лаборатории могут получить хорошие результаты в ходе регулярного, например ежемесячного, контроля тех характеристик, которые для исследований института являются наиболее важными. Резкие изменения могут быть связаны либо с влиянием генетики, либо окружающей среды, но в любом случае исследователи узнают об этом и можно будет изучать причины изменения [117, 198, 425].

Плодовитость должна отслеживаться регулярно для обеспечения эффективного управления воспроизводственной колонией. Внезапный и резкий рост плодовитости должен быть тщательно исследован, поскольку он может быть вызван *гибридной мощью*, являющейся результатом спаривания, противоречащего обычной системе размножения данного организма. Хорошо известно, что *гибриды F1* обычно воспроизводятся гораздо лучше, чем инбреды. Так, несмотря на то, что для повышения плодовитости при регулярном ведении воспроизводственных колоний рекомендована селекция, к очень большим пометам следует относиться с некоторым подозрением, если существует возможность того, что генетическая контаминация уже имела место.

Поведение должно изучаться экспериментаторами тщательно (хотя обычно субъективно). Многие штаммы обладают спокойным темпераментом, в то же время гибриды, как правило, бывают гораздо более нервными и активными. Так, если темперамент штамма меняется, то это должно стать поводом для

тщательного исследования с применением способов пересадки кожи, исследования формы нижней челюсти или биохимических способов. Нет нужды подчеркивать, что весь персонал, работающий с *инбредными штаммами*, должен быть хорошо подготовлен и должен обладать как можно более высокой квалификацией.

Индивидуальность инбредных штаммов

Каждый *инбредный штамм* представляет собой уникальное сочетание генетического материала, порождающее уникальный *фенотип*. Многие такие фенотипные черты полезны в исследованиях, некоторые позволяют вывести «модели» болезней, прочие дают полезные физиологические, анатомические или поведенческие характеристики (примеры приведены в табл. 43). Эти индивидуальности, хорошо отраженные в литературе, представляют одну из самых полезных инбредных черт.

Таблица 43

Примеры моделей болезней и интересующих характеристик в инбредных линиях мышей

Характеристика	Линии
Предпочтение спирта (10%)	C57BL, C57BR/cd
Агрессия/борьба	SJL, NZW
Аудиогенные судороги	DBA/2
Аутоиммунная анемия	NZB
Амилоидоз	YBR, SJL
Расщепление нёба	CL, A
Синдром Чедиака–Хигаши	SB
Гипертония и/или пороки сердца	BALB/c, DBA/1, DBA/2
Гиперпролинемия и пролинурия	PRO
Ожирение и/или диабет	NZO, PBB, KK, AY
Остеоартропатия коленных суставов	STR/1
Полидипсия	SWR, SWV
Устойчивость к миксовирусным инфекциям	A2G
Опухоли:	
Лейкемия	AKR, C58, PL, RF
Ретикулоклеточная саркома (болезнь Ходжкина)	SJL
Опухоль легких	A
Гепатома	C3Hf
Опухоль молочной железы	C3H, C3H-4n^{y}, GRS/A, RIII
Овариальная тератома	LT
Приобретенная плазмацитома	BALB/c, NZB
Тестикулярная тератома	129/trSv
Полное отсутствие спонтанных опухолей	X/Gf
Расстройство питания	A2G

Хотя каждый инбредный штамм обладает собственным уникальным набором характеристик, для многих экспериментов нужен только *хороший*, *стандартный*, *воспроизводимый*, *легкодоступный* экспериментальный материал. Некоторые более общие «общецелевые» штаммы, например, C57BL, CBA, BALB/c и C3H в случае мышей и F344, LEW и PVG в случае крыс, идеальны для таких экспериментов, хотя всегда необходимо помнить, что экспериментальные результаты, полученные от единичного инбредного штамма, не могут обобщаться применительно ко всем особям. Там, где необходима широкая применимость, следует использовать *несколько штаммов*. Хотя аутбредный материал также представляет собой уникальное собрание генотипов, ничто не свидетельствует о том, что единичный аутбредный материал представляет особи в целом с большей представительностью, чем единичный инбредный штамм. Для повышения общеприменимости результатов исследований использовать единичный аутбредный материал невозможно.

Гетерозис и внутриклассовые корреляции

Хорошо известно, что животные из инбредных линий, как правило, обладают меньшей генетической мощью и более слабой детородной функцией по сравнению с большинством гибридов или аутбредным материалом. Это является результатом *инбредной депрессии*, общего ослабления готовности к воспроизводству в связи с повышением гомозиготности. Примечательной чертой такой депрессии является снижение показателей по всем параметрам, связанным с общей способностью производить молодняк, доживающий до полового созревания — «готовностью». Так, у мышей повышение коэффициента инбридинга на 10 процентов приводит в среднем к уменьшению величины помета на 0,6 и снижению веса в возрасте 6 недель на 0,58 г у самок. В качестве постулата принято считать, что противоположностью инбредной депрессии является *гибридная мощь* животных. Она поддается математическому описанию [206-208] и обозначается как *гетерозис*.

Когда измеряемая переменная является дискретной (мертвый/живой, респондер/нереспондер и т.д.), возможность рассчитать r_I сохраняется. Способ заключается в произвольном назначении величины животному 1, находящемуся под воздействием, и животному 0, не находящемуся под воздействием. Если n_i является общим количеством животных в i-м штамме, r_i из них не являются нормальными и имеются c штаммов с математическим ожиданием количества животных, равным $N \Leftrightarrow \sum n_i$, то средний квадрат $D(x)$ между штаммами равен

$$D(x) = \left[\sum r_i^2 / n_i - \frac{(\sum r_i)^2}{N} \right] \Big/ (c-1), \qquad (38)$$

а средний квадрат в штаммах равен

$$D(y) = \left[\sum_i r_i - \frac{\sum_i r_i^2}{n_i} \right] \Big/ (N - c) . \quad (39)$$

Затем можно оценить внутриклассовую корреляцию по

$$r_i = \frac{[D(x) - D(y)]}{[D(x) + (k-1)D(y)]} , \quad (40)$$

где

$$k = (N - \sum_i r_i^2 / N)/(c-1) . \quad (41)$$

Пример приводится в табл. 44.

Одна из проблем с расчетным значением r_I, полученным таким путем, заключается в том, что оно зависит от среднего уровня наблюдаемых аномалий.

Таблица 44

Вариационный размах между нормальными и аномальными (после введения ацетазоламида) линиями мышей для качественной характеристики

Штамм	Нормальные	Аномальные	Итого
CBA/J	28	15	43
C57BL/6	38	33	71
A/J	18	8	26
DBA/2	15	6	21
C3H/He	57	5	62
SWR	29	1	30
		68	253

$$D(x) = \left\{ \left[\frac{15^2}{43} + \frac{33^2}{71} + \ldots + \frac{1^2}{30} \right] - \frac{68^2}{253} \right\} / 5 = 1{,}380 \quad (42)$$

$$D(y) = \left\{ 68 - \left[\frac{15^2}{43} + \frac{33^2}{71} + \ldots + \frac{1^2}{30} \right] \right\} / (253 - 6) = 0{,}173 \quad (43)$$

$$K = \{253 - (43^2 + 71^2 + \ldots + 30^2)/253\}/5 = 40{,}5 \quad (44)$$

$$r_H = \frac{1{,}380 - 0{,}173}{1{,}380 + 39{,}5 \cdot 0{,}173} = 0{,}147 \quad (45)$$

С поправкой на независимую от частоты корреляцию (r_{HK}):

$$r_{HK} = r_{H,01} \cdot \frac{p(1-p)}{z^2} \quad (46)$$

для $p = 0,269$, $z = 0,385$

$$r_{HK} = 0,147 \cdot \frac{0,269(1-0,269)}{0,385^2} = 0,191 \ . \qquad (47)$$

Таким образом, если встречалось больше животных с аномалиями, то r_I менялось. Это можно скорректировать путем перехода на модель постоянного исходного распределения ответственности, при которой отдельные лица попадают под воздействие, если они переступают определенное пороговое значение ответственности. ***Внутриклассовую корреляцию*** на шкале 0, 1 $r_{H,\,01}$ можно обратить в корреляцию на непрерывной шкале следующим образом:

$$r_{HK} = r_{H,01} \cdot \frac{p(1-p)}{z^2} \ , \qquad (48)$$

где $p = \sum r_i / N$ является общей частотой особей с аномалией, а z — ординатой на стандартизированной кривой нормального распределения, соответствующей вероятности p. Приблизительные стандартные погрешности r_H как для непрерывных, так и для дискретных переменных вычисляются по приведенным формулам, а в табл. 44 даны количественные различия между линиями.

О генах-таймерах и прогнозируемых биомоделях

Ряд качеств инбредных животных делает их уникальным инструментом биомоделирования, а также использования в биомедицинских и биологических исследованиях. Инбредные животные гомозиготны и генетически однородны, что обеспечивает получение на них надежных и воспроизводимых результатов. Новые направления — гибридомная технология, создание трансгенных животных — также основаны на использовании мышей инбредных стандартных линий. Инбредные мыши используются при тестировании лекарственных препаратов, химических соединений на мутагенность, канцерогенность и построения моделей. Подробнее этот вопрос будет рассмотрен далее в этом разделе, а также в гл. 38.

В лаборатории генетики НЦМБ РАМН заведующим лабораторией А.М. Малашенко и его сотрудниками Е.Л. Игнатьевой и Т.Б. Бесковой предпринята попытка создания модели периодически меняющегося прогнозируемого ответа на мутагенные воздействия у мышей CBA/LacY в ряду поколений инбридинга [446]. Для тестирования химических мутагенов исследован и выделен ряд линий, отобрано несколько линий с различными характеристиками и чувствительностью к мутагенам. Среди этих линий CBA/LacY (CBA) была выбрана как нормальная устойчивая линия по результатам опытов с тиоТЭФ и другими мутагенами.

В ходе последующих исследований было обнаружено резкое достоверное повышение чувствительности мышей CBA к кластогенному эффекту *тиоТЭФ*.

Обнаружены также случаи невоспроизведения результатов как в нашей, так и в других лабораториях. Изучение этого явления привело к заключению о существовании генетически детерминированных колебаний нормы реакции организма в ряду поколений инбридинга. Предположили, что существуют *генетические системы* «генов-таймеров», которые от поколения к поколению меняют с определенным ритмом активность генома, плодовитость и норму реакции организма.

Этот вывод был основан на анализе корреляций между колебаниями плодовитости в разных сублиниях CBA и корреляции между плодовитостью и чувствительностью к мутагену тиоТЭФ ($r = -0{,}91 + 0{,}21$). Кроме того, была обнаружена высокая корреляция колебаний коэффициента плодовитости Q в ряду поколений инбридинга у мышей, разводимых неодновременно — максимальный разрыв между инбредным возрастом (F) в лаборатории генетики и филиале «Столбовая» достигал пяти поколений (это соответствует 2,5–3 годам). Обе сублинии происходили от одной пары сибсов в F_{93} и животных, живущих в разное время в разных условиях, объединял только геном их общих предков. Этот разрыв возник случайно и далее он стал сокращаться.

Моделирование подобной ситуации было осуществлено с целью проверки предложенной гипотезы. Ранее использовались данные по оценке чувствительности мышей в ряду шести поколений, при этом период цикла колебаний уровня плодовитости составил четыре поколения. Поэтому было начато создание двух колоний мышей CBA — двух сублиний (смена поколений в которых происходила с разной скоростью) при регулярном наблюдении уровня ответа на мутаген тиоТЭФ мышей каждого последующего поколения, предполагая достигнуть разрыва в 8–10 поколений.

Эта задача требует длительного разведения, однако в итоге возможно создание двух колоний одновременно существующих изогенных мышей с резко различающейся чувствительностью к мутагену. Они могли бы стать объектами для начала исследования *генетических факторов*, периодически меняющих *норму реакций организма*, *плодовитость* и, вероятно, *продолжительность жизни* (так же, как в линиях дрозофилы). Когда были получены два поколения: в «быстрой» сублинии (на племя используются мышата первого помета) и «медленной» сублинии (размножение до конца репродуктивного периода) — F_{146} и F_{142} соответственно, разводимые одновременно и достоверно различающиеся по чувствительности к тиоТЭФ, было выполнено исследование их чувствительности к кластогенному эффекту классического канцерогена бензпирена.

Оценена чувствительность к тиоТЭФ мышей 19 последовательных поколений, размножаемых с возможно более быстрой сменой поколений («быстрая» сублиния). Кривая колебаний признака согласуется с ранее полученными данными и предложенной гипотезой, объясняющей эти колебания.

При среднем значении 30% клеток с индуцированными аберрациями хромосом частота колебаний варьировала от 20 до 40%.

Минимальные и максимальные значения достоверно отличаются не только друг от друга, но и от среднего уровня (при используемых выборках различия достоверны при разнице более 5%). Спектр хромосомных повреждений, индуцированных тиоТЭФ, представлен в табл. 45 по поколениям F_{142} и F_{146}. Различия между максимально различающимися по чувствительности поколениями иллюстрируют данные по двум последовательным поколениям – F_{146} (42,6% клеток с повреждением хромосом) и F_{147} (20,5%). При просмотре 500 клеток зарегистрировано: F_{146} — 415 делений, 103 обменные аберрации (кольца и транслокации) и 13 клеток с множественными аберрациями. Количество разрывов хромосом на одну клетку 1,56; F_{147} — 150 делений, 33 обменные аберрации, 0,43 разрыва на клетку. Таким образом, у мышей поколения F_{146} в клетках костного мозга возникло в 3 раза больше повреждений хромосом, чем у их потомков — поколение F_{147}.

На основе выровненной кривой колебаний признака статистическим методом, предназначенным для анализа периодических функций (циклические изменения численности популяции и т.д.), доказана периодичность колебаний и полное соответствие данным, полученным при исследовании колебаний плодовитости мышей. Циклические колебания идут с тем же ритмом: 4,3 ± 0,3 поколения инбридинга на период цикла.

Чувствительность мышей «медленной» сублинии, прошедшей с начала раздельного разведения двух сублиний четыре поколения инбридинга, соответствовала ожидаемой на основе оценки признака у мышей «быстрой» сублинии. В табл. 46 представлены данные по оценке эффекта тиоТЭФ и бензпирен у мышей F_{142} и F_{146} («медленная» и «быстрая» сублиния соответственно), разводимых одновременно. Мыши поколения F_{146} высокочувствительны к тиоТЭФ, мыши F_{142} находились на среднем «нормальном» уровне, различия между ними достоверны при $P < 0{,}001$. Чувствительность мышей F_{142} «быстрой» сублинии, живших два года назад до проведения данной работы, была аналогичной (32,6%).

Бензпирен был выбран для данной работы для расширения характеристики различий нормы реакций двух поколений, различающихся по чувствительности к алкилирующему мутагену. Полученные данные демонстрируют, насколько норма реакции мышей определенного поколения влияет на результаты тестирования мутагенной активности исследуемого химического соединения.

Бензпирен является классическим канцерогеном, представителем полициклических углеводородов. Его присутствие обнаружено в загрязненном промышленными выбросами воздухе, выхлопных газах автомобильных двигателей, табачном дыме, консервированных копчением продуктах питания и т.д. При воздействии на животных в эксперименте бензпирен оказался

активным локальным канцерогеном и индуктором опухолей тканей, не контактировавших с ним (опухоли легких, лейкемии). Для этого вещества установлена корреляция канцерогенных и мутагенных свойств. При этом индукция генотоксичности обусловлена целым комплексом полиморфных метаболизирующих генов. У мышей бензпирен способен индуцировать доминантные летальные мутации в постмейотических половых клетках самцов и хромосомные нарушения в клетках костного мозга. Поэтому он был предложен для позитивного контроля в программе ВОЗ по оценке краткосрочных тестов для исследования канцерогенности химических соединений.

Таблица 45

Кластогенный эффект тиоТЭФ в дозе 2,5 мг/кг и бензпирена в дозе 400 мг/кг в клетках костного мозга мышей CBA/LacY поколений F_{142} и F_{146}, существовавших одновременно

Поколение	Мутаген введения	Метод введения	Число клеток	Число хромосомных нарушений					Число клеток, содержащих	
				Пробелы	Фрагменты	Кольца	Обмены	Множественные аберрации	структурные аберрации	хромосомные нарушения, %
F_{142}	ТиоТЭФ	в/б	500	3	253	16	70	18	150 (30,0±2,0)	150 (30,0±2,0)*
	Бензпирен	в/б	400	1	5				5 (1,3±0,6)	6 (1,5±0,6)
		п/о	400	1	4				4 (1,0+0,5)	5 (1,2±0,5)
	Контроль		500	1	2				2 (0,4±0,3)	3 (0,6±)
F_{146}	ТиоТЭФ	в/б	500	13	415	23	80	13	208 (41,6±2,2)	213 (42,6±2,2)*
	Бензпирен	в/б	500		10		1		11 (2,2±0,7)	11 (2,2±0,7)
		п/о	500	2	11		1		12 (2,4±0,7)	14 (2,8±0,7)*
	Контроль		500	1	2				2 (0.4±0.3)	3 (0.6±0.3)

* Достоверность различия опыта и контроля $P < 0,001$.

В табл. 45 представлены результаты оценки кластогенного эффекта бензпирена у мышей двух поколений (F_{142} и F_{146}) при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении. При низкой частоте клеток с хромосомными нарушениями эти группы одного поколения не различались. Однако в реакциях между поколениями установлены достоверные различия. Если у мышей F_{142} при объединении групп с разным путем введения канцерогена найдено 1,5% клеток с повреждениями хромосом, что недостоверно отличается от контроля, то у мышей F_{146} — 2,5% ± 0,7 (отличие от контроля достоверно при $P < 0,001$, от F_{142} — при $P < 0,01$). Полученная оценка для F_{146} близка к найденной ранее [448]. Совершенно очевидно, что оценка эффекта бензпирена у мышей поколения F_{142} дает ложный отрицательный результат.

Проверка чувствительность к тиоТЭФ мышей четырех последовательных пометов поколения F_{147} дала следующие оценки: 21,2–16,2–15,8–12,4% кле-

ток с аберрациями хромосом. Налицо определенное направленное изменение признака, в данном случае — снижение. Снижение чувствительности свидетельствует, что оно обусловлено именно возрастом отца, так как старение матери может дать только снижение резистентности к мутагену.

На следующих этапах необходимо более полное исследование, включающее оценку чувствительности потомков мышей, находящихся на противоположных точках кривой колебания признака в ряду поколений. Можно ожидать разнонаправленные изменения. Есть косвенное подтверждение этого предположения в опытах по индукции опухолей канцерогеном у мышей двух родственных сублиний Стронга: у потомков Prunt по мере увеличения номера помета предрасположенность к раку возрастала, в сублинии 5-Prunt она падала. Эти сублинии отличались инбредным возрастом: вероятно, родители изученных потомков обладали разной чувствительностью к канцерогену и находились на разных позициях по кривой колебаний признака.

Полученные данные демонстрируют, насколько важен учет колебаний нормы реакции в поколениях инбридинга при исследовании канцерогенеза и эффекта генетически активных соединений на инбредных мышах. Результаты исследований хорошо согласуются с ранее полученными данными и предложенной гипотезой о генетической детерминированности наблюдаемых колебаний анализируемых признаков (плодовитость, норма реакций). Колебания чувствительности к мутагену в ряду поколений выглядят как регулярный, с определенным ритмом процесс, не зависящий от средовых воздействий и контролируемый геномом. Следовательно, существуют *гены-таймеры*, которые меняют активность генома и реакции организма от поколения к поколению. Вероятно, эти гены функционируют под влиянием информации об активности генома предыдущего поколения с использованием процесса генетического импринтинга. Это предположение согласуется с гипотезами о природе и биологической цели генетического импринтинга.

Модель существования функционирующих во времени *генетических часов* предполагает наличие каких-то единиц измерения. Наиболее вероятно, что это — циклы деления половых клеток. Трансформированные культуры соматических клеток прекращают существование после определенного числа делений. Поскольку предшественники мужских половых клеток делятся непрерывно, то норма реакции потомков должна меняться в зависимости от возраста родителей и номера помета. Из этого следует, что установленный ритм колебаний плодовитости и нормы реакции (4,3 ± 0,3) характерен для принятого в НЦБМТ РАМН и филиале «Столбовая» комплектования следующего поколения в племенном ядре из мышей 2–3-го пометов. Можно ожидать изменения ритма при ином выборе (1-го или 6-го пометов) и построить прогностическую модель.

Полученные данные позволяют надеяться на перспективность исследования обнаруженных закономерностей. В опытах на линиях дрозофилы ус-

тановлено, что колебания *плодовитости*, *радиочувствительности* и *продолжительности жизни* в ряду поколений *коррелированы*. Изучение гипотетических генов-таймеров может дать полезную информацию для разработки оптимизации качества и продолжительности жизни человека. Интересна в этом отношении гипотеза о возможной регуляции скорости процесса старения видоспецифическими генами-таймерами (см. гл. 34-37). С другой стороны, эти данные практически полезны для планирования и организации экспериментов с использованием инбредных мышей, интерпретации полученных результатов и построения оптимизированных моделей.

Нокаутные и трансгенные животные

Хотя в основном все медико-биологические исследования чаще выполняют на таких животных, как мыши, крысы, хомячки, кролики, однако по своим биологическим и физиологическим особенностям ближе всех к человеку — мини-свинья. Именно ее органы и ткани все чаще используют для трансплантологии.

Как мы уже подчеркивали, в процессе получения мини-свиней, в том числе и светлогорской породы, были использованы шведские ландрасские свиньи — от них белая кожа и большие уши, вьетнамские черные свиньи — от них малый рост. Дикие кабаны наградили мини-свиней физической крепостью. В результате у животных, весящих до 50 килограммов, размеры сердца и его клапанов, селезенки, поджелудочной железы, печени, почек, надпочечников и простаты аналогичны размерам соответствующих органов человека. У мини-свиней сходный с человеком липидный обмен, что позволяет исследовать на них ишемическую болезнь, разрабатывать методы ее ранней диагностики и лечения. Сердечные клапаны мини-свиней идеальны для пересадки человеку. В 90-х годах начали изучать анатомические особенности сердца и коронарных сосудов мини-свиней. Удалось установить, что они очень схожи с нашими. Мини-свиньи годятся для пересадки сердца и его частей.

Выращивание специальных животных-доноров снимает проблемы заготовки и консервации органов, отныне можно будет иметь наготове орган необходимого размера от гарантированно здорового донора. Американские, а в дальнейшем и российские ученые клонировали генетически измененных мини-свиней, подходящих для трансплантации органов и тканей человеку. Это серьезный научный прорыв, поскольку наиболее реальный путь трансплантологии — пересадка органа от одного биологического вида другому. Большие надежды поэтому возлагаются на мини-свиней, но при трансплантации основная проблема — иммунологическая реакция организма, которая вызывает отторжение чужой ткани или органа из-за того, что человеческие антитела атакуют клетки чужого организма. Мишенями служат молекулы сахаров на поверхности клеток мини-свиней. Чтобы уничтожить мишени, ученые «нока-

утировали» ген, который обеспечивает их образование, так называемый GGTA1 ген. Антитела не могут атаковать клетки без мишеней, поэтому реакция отторжения блокируется [429]. Следующим шагом стало клонирование генетически измененных мини-свиней и создание новой линии этих животных, которая предназначена специально для трансплантации.

Мини-свинья по имени Голди, появившаяся на свет в лаборатории университета штата Миссури (США), стала научной сенсацией. Она является клоном — генетический материал для ее создания был взят у свиньи-донора. У Голди заблокированы два гена, т. е. они есть, но не выполняют свои функции. С ними проделали манипуляции, которые в генетике называют *нокаутом*, — попросту говоря, «выбили» из колеи. Эти гены отвечают за выработку альфа-1,3-галактозилтрансферазы (GGTA1). Именно через этот полисахарид запускается мощная иммунная реакция отторжения. Именно эта проблема препятствует успеху *ксенотрансплантологии*, т. е. пересадки органов животных человеку. А если у животного нет GGTA1, то антитела человека бессильны, и отторжение не происходит.

Возможно, органы Голди, выведенной специалистом по репродуктивной эмбриологии профессором Рэндалом Прэзером, уже сегодня не вызвали бы реакции отторжения, если их пересадить человеку. Но до этого на самом деле еще далеко. Во-первых, нужна не одна такая Голди, а целое стадо. Во-вторых, требуется еще не одна серия экспериментов на животных, прежде чем достижение найдет дорогу в клинику.

Проведенные в Каролинском институте Стокгольма клинические испытания показали, что свиные панкреатические железы, введенные человеку, способны производить инсулин и годятся для лечения диабета. Есть также данные об успешных результатах лечения больных людей, страдающих болезнью Паркинсона, болезнью Хантингтона и эпилепсией: это может быть осуществлено путем переноса им нервных клеток головного мозга от эмбриона-свиньи.

Что касается изучения онтогенеза иммунного ответа на разные антигены, то мини-свиньи являются просто незаменимой моделью. *Во-первых*, невелики по размеру и ими можно легко манипулировать в лабораторных условиях; *во-вторых*, многоплодны, что позволяет в одном помете иметь несколько контрольных и подопытных животных; *в-третьих*, возможно выращивание в контролируемых условиях с определенной антигенной экспозицией благодаря достижениям гнотобиологии; и, *в-четвертых*, поросята рождаются лишенными иммуноглобулинов, обладающих активностью антител.

В Кембридже (Англия) ученые путем внедрения генов человека в геном свиньи вывели породу трансгенных свиней, генетический код которых позволяет предположить, что органы этих животных не будут отторгнуты организмом человека в случае их пересадки. Это происходит за счет генов-регуляторов, которые регулируют иммунную систему организма человека-реци-

пиента. Первые опыты по пересадке почек трансгенных свиней обезьянам показали обнадеживающие результаты — почки нормально функционировали в организме обезьяны более двух месяцев. Это указывает на реальную возможность пересадки почек, сердца и других органов от свиней человеку. В связи с этим британское и израильское правительства вскоре, по-видимому, разрешат пересадку сердца и почек от трансгенных свиней человеку. Таким образом, ксенотрансплантация, которая до недавнего времени рассматривалась как нереальная альтернатива донорству человеческих органов, сейчас провозглашается реальной возможностью. Но есть опасность, что вместе с печенью, почками или свиным сердцем в организм человека может проникнуть вирус, малоизученный на настоящий момент.

Использование более мелких животных, и в частности лабораторных мышей, в качестве биомоделей наследственных болезней человека и в трансплантологии основано либо на применении инбридинга — в этом случае *ценность представляет весь генотип*, который детерминирует весь комплекс биологических характеристик, либо на применении мутантов — в этом случае *генотип играет важную роль, но не основную*.

Большая часть мутантов спонтанного происхождения, однако существует ряд индуцированных радиацией хромосомных аномалий и химическими мутагенами *генных мутаций*. Индуцируемые этими факторами мутации происходят в любом сайте независимо от экспериментатора. В последние десятилетия начат принципиально иной способ индукции мутаций. Индуцируются направленные мутации конкретных генов. Активно создаются две формы направленных мутаций — *трансгенные организмы и нокаутные*.

Трансгенные формы несут сегмент чужой ДНК, который введен в геном путем гомологичной рекомбинации, вставкой инфекционным агентом — ретровирусным вектором или негомологичной вставкой (микроинъекцией в пронуклеус). В JAX более 100 трансгенных линий.

В 2004 году в НЦБМТ РАМН из Института канцерогенеза РОНЦ РАМН получены трансгенные мыши B6-Tg N(ACT в EGFP) 10 Sв, несущие ген green fluorescent protein (зеленое свечение в УФ).

Нокаутные формы получают микроинъекцией генетически измененных эмбриональных *стволовых клеток* в бластоцисту хозяина. Разрушение, замещение или удвоение гена в стволовых клетках производят путем гомологичной рекомбинации между экзогенной ДНК и эндогенным геном (например, блокированием работы целевого гена встройкой гена резистентности к неомицину). Большая часть *трансгенных* линий создана для экспериментальной онкологии и иммунологии. В JAX лаборатории поддерживается более 300 нокаутных линий, в Институте канцерогенеза РОНЦ — 6 линий.

Методы направленного мутагенеза распространяются на самые различные макроорганизмы: от мышей до свиней и обезьян. Из литературы известно,что планируется инактивировать ген лактоглобулина у коров, чтобы мо-

локо было не аллергенным. Американские компании «Гемател» и «Даунпрот вакцин корпорейшен» пытаются вывести и затем клонировать коров с человеческими генами для производства антител человека к токсину ботулизма (в целях защиты от биотерроризма).

В России наиболее интенсивно работа с трансгенными мышами ведется в РОНЦ РАМН Л.А.Побезинским, Е.Л.Побезинской и сотрудниками [532, 533]. В последний год начата активная работа в этом направлении в лаборатории генетики (зав. к.б.н. А.М.Малашенко) нашего Центра в сотрудничестве с РОНЦ. Мы сошлемся на любезно предоставленные вышеуказанными авторами данные по исследованиям на трансгенных мышах.

Как известно, аллогенные трансплантаты успешно отторгаются иммунной системой реципиента даже при трансплантации между конгенными линиями животных, различающимися только аллелями МНС. Поэтому допущение возможности участия рецепторов врожденного иммунитета в аллогенных реакциях потребовало бы также допустить и гетерогенность в их специфичности, не только сопоставимую по широте разнообразия, но и скорректированную с экспрессией различных аллельных форм молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС). Таким образом, возникла проблема в понимании механизмов участия системы врожденного иммунитета в отторжении аллогенных трансплантатов.

В работах [532, 533], наряду с традиционными линиями мышей на основе C57BL/6, использованы мыши-нокауты по молекулам β_2-микроглобулина — C57BL/6J-B2m^{tmiUnc}(H-2^b), транспортеров, ассоциированных с процессингом (TAP) — C57BL/6J-$TapI^{tmIArp}$, α-цепи ЕСК — C57BL/6J-$TCR6^{tmIMom}$ (H-2^b), CD4 – B6.129S2-$Cd4^{tmIMak}$, CD8 – B6.129S2-$Cd8a^{tmIMak}$, CD400-0B6.129P2-$Tnfrsf5^{tmIKik}$.

Одним из ранних проявлений иммунного ответа мышей на клетки аллогенных опухолей является накопление клеток с повышенной гранулярностью в селезенке. Их появление может быть обнаружено на следующий день после иммунизации и достигает пика на 5–6-й день. Эти клетки не экспрессируют маркеров Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, естественных киллеров и дендритных клеток [1, 221]. Они экспрессируют CD11b (Mac-1) и Gr-1 (Ly6G) b и по морфологии являются нейтрофилами. Отсутствие экспрессии CD31 (PECAM-1) указывает на их активированное состояние, возникшее в процессе воспалительного ответа и проникновение в ткани. У мышей, имеющих дефекты развития клеток CD^8+, ответ нейтрофилов на иммунизацию клетками аллогенных опухолей существенно подавлен. Он полностью отсутствует у генетических нокаутов по α-цепи Т-клеточного рецептора (TCR). У нокаутов по CD4 и CD40 интенсивность ответа сопоставима с ответом животных дикого типа, что указывает на его независимость от Е-хелперов $CD4^+$ и активации профессиональных антигенпрезентирующих клеток реципиента.

Использование мышей, конгенных по MHC, а также животных, нокаутированных по молекулам, участвующим в презентации, и корецепторам CD4 и CD8, показало, что появление активированных нейтрофилов в селезенке реципиентов опухолевых клеток зависит от экспрессии аллогенной молекулы MHC класса I опухолевыми клетками и корецептора $CD8^+$ Т-лимфоцитами в организме реципиента. Полное отсутствие эффекта у нокаутов по α-цепи TCR однозначно свидетельствует о том, что эффект полностью зависит от распознавания аллоантигена Т-клетками, экспрессирующими TCRα/β, функция которых не может быть замещена естественными киллерами и Т-клетками, экспрессирующими TCRγ/δ. Подавление ответа у нокаутов по генам TAP, β_2-микроглобулина и CD8 ни в одном случае не было полным, что, по мнению авторов [532, 533], объясняется высокой способностью внутритимусной селекции к компенсации нарушений, вызванных дефицитом специфических лигандов (собственных молекул MHC) и костимуляторов. У нокаутов по генам TAP и β_2-микроглобулина в периферических лимфоидных органах обнаруживается небольшое количество клеток $CD8^+$, тогда как у нокаутов по корецептору CD8 внутритимусная селекция может приводить к появлению клеток $CD4^-CD8^-$, способных реагировать в VLR на молекулы MHC класса I в отсутствие корецептора.

Интересен тот факт, что отсутствие корецептора CD4 и костимуляторного рецептора CD40 на клетках реципиента не оказывают влияния на интенсивность накопления нейтрофилов в селезенке животных, иммунизированных клетками аллогенных опухолей.

Таким образом, у животных с нокаутом в генах удается выявить принципиально новые эффекты и расшифровать механизмы формирования и течения воспалительного ответа, формирования реакций при трансплантации и в целом точнее представлять себе формирование иммунных реакций и процессов.

Биомодели для исследования опухолей

Таблица 46

Генетически обусловленные и экспериментальные биомодели для исследования механизмов развития опухолевых процессов и оценки эффективности противоопухолевых средств

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Модели для изучения спектра противоопухолевой активности на основе перевиваемых опухолей	Мыши	Линии DBA2 или гибриды $BDF_1[DBA_2xC_{57}$ BL/6j]	В С	18-20 г	2-2,5 мес.

Продолжение табл. 46

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Лимфолейкоз Р-388 (прививочная доза-10^6 внутрибрюшинно, внутривенно или подкожно)	Мыши	Линии DBA_2 или гибриды BDF	В С	30-40 г	3-10 мес.
Лимфолейкоз L-1210 (прививочная доза-10^5 внутрибрюшинно, внутривенно или подкожно)	Мыши	Линии $C_{57}BL/6j$ и гибриды BDF_1 или $F_1[CBAxC_{57}BL/6j]$	В С	30-40 г	3-10 мес.
Меланома В-16 (прививается взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь, подкожно или внутривенно)	Мыши	Линии $C_{57}BL/6j$ и гибриды BDF_1 или F_1	В С	30-40 г	3-10 мес.
Эпидермоидная карцинома лёгкого Lewis (прививается подкожно взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь)	Мыши	Линии $C_{57}BL/6j$ и гибриды BDF_1 или F_1	В С	30-40 г	3-10 мес.
Аденокарцинома молочной железы Са-755 (прививается подкожно взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь)	Мыши	Линии DBA_2 или гибриды BDF_1	В С	30-40 г	3-10 мес.
Лимфаденоз Фишера L5178Y (прививается подкожно взвесью 10^6 клеток, внутрибрюшинно)	Мыши	Линии DBA или гибриды BDF_1	В С	30-40 г	3-10 мес.
Опухолевый плеврит лимфолейкоза Р-388 (прививочная доза 5x105-1x106 кл./мышь в объеме 0,2-0,3 мл)	Мыши	Линии СВА	В С	30-40 г	3-10 мес.

Продолжение табл. 46

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Рак шейки матки РШМ-5 (прививается подкожно взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь)	Мыши	Линии BALB/c	В С	30-40 г	3-10 мес.
Аденокарцинома толстой кишки АКАТОЛ (прививается подкожно взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь)	Мыши	Линии C_3/HA	В С	30-40 г	3-10 мес.
Гепатома 22 солидная и асцитная (прививается подкожно (Г-22) или внутрибрюшинно (АГ-22) суспензией асцитных клеток из подкожно растущей опухоли по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь)	Мыши	Линии C_3HA	В С	30-40 г	3-10 мес.
Карцинома Эрлиха асцитная и солидная (прививается внутрибрюшинно (АРЭ) или подкожно (СЭ) суспензией клеток асцита по 10^7 кл./мышь или взвесью клеток из подкожно растущей опухоли по 30-60 мг на мышь в разведении питательной среды)	Мыши	Линии Balb/c, гибриды F_1, C_{57} BL/6j или C_3HA	В С	30-40 г	3-10 мес.
Спонтанные опухоли молочных желез:					
60% случаев	Мыши	AHE J	В В	30-40 г	380-400 дн.
75% «	«	CBA/J	В	«	3-10 мес.
85-100% «	«	C3H/HeLac	В	«	До 1 года
20% «	«	C3Hf	В	«	3-10 мес.
75% «	«	DBA/1JLac	В	«	>1 года
84% «	«	DD/He	В	«	3-10 мес.

Продолжение табл. 46

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Биомоделирование на основе гепатом и других спонтанных опухолей печени:					
10-12% случаев	Крысы	AUG/LacSto	В С	196-285 г	2,5 мес.-3 г.
27% «	Мыши	C3HA/Mv	В С	30-40 г	3-10 мес.
28% «	«	CBA/CaLac	С	«	«
26-30% «	«	CBA/LacY	С С	«	«
64% «	«	CBA/J	С С	«	«
Биомоделирование на основе спонтанных опухолей легких:					
7% случаев	Мыши	CBA/CaLac	С	30-40 г	3-10 мес.
10% «	«	C3H/HeDiSn	В С	«	«
12,5% «	«	AHJ	В	«	«
30% «	«	CC57BR/Mv	В С	«	«
50% «	«	AHeJ	С	«	«
Биомодель спонтанных опухолей (тератомы до 5%) с хаотичной дифференциацией клеток, происходящих от одной стволовой клетки	Мыши	129/J.4	В С	30-40 г	3-10 мес.
Биомодель спонтанной лимфоидной лейкемии (с гибелью к 300-му дню):					
более 30% случаев	Мыши	DBA/2JY	В В	30-40 г	3-10 мес.
70-80% «	«	AKR/JY	С	«	«
91% «	«	AKR/JY	В	«	«
Модель натурального лейкоза:					
26% случаев	Крысы	F344/N	В В	250-300 г	5-12 мес.
36% «	Крысы	F344/N	С	«	«
72% «	Мыши	HRS/J	В	30-40 г	3-10 мес.
73% «	Мыши	C58/JY	С	«	«
80-88% «	Мыши	C58/JY	В	«	«
Биомодель ретикулоклеточной саркомы типа Ходжкина до 91%	Мыши	SJL/J	В С	30-40 г	3-10 мес.
Модель лейкемии, вызванной эстрогенами (через 180 дней)	Мыши	A/WySnKL	В С	30-40 г	3-10 мес.

Продолжение табл. 46

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Высокочувствительная биомодель к цитогенетическому эффекту тиоТЭФ: в дозе 5мг/кг внутрибрюшинно 43% клеток с хромосомными нарушениями (спонтанно 3,4%)	Мыши Мыши	A/WySnKL	В С В	30-40 г 30-40 г	3-10 мес. 3-10 мес.
Биомодель ретикулоклеточной опухоли типа В (спонтанная в 55%)	Мыши	C57L/JY	В С	30-40 г	3-10 мес.
Биомодель природной аденомы гипофиза в 25-36%	Крысы	F344/N	В С	300-400 г	22-31 мес.
Биомодель натуральной интерстициально-клеточной опухоли семенников до 85%	Крысы	F344/N	С С	300-400 г	5-20 мес.
Биомодель карциномы щитовидной железы: 25% случаев 27-40% «	 Крысы Крысы	 F344/N WAG/GSto	 В С В С	 300-400 г 300-400 г	 5-20 мес. 5-20 мес.
Биомодель высокой чувствительности к образованию опухолей под воздействием бензопирена и триметилхолантрена	Хомячки	Линии: 1,5 4,24 12,14 82,73	В С В В С С В С	120 г « « «	6-18 мес. « « «
Биомодель спонтанных опухолей желудка	Хомячки	4,22 54,7	В С В С	120 г «	6-18 мес. «
Биомодель спонтанных опухолей тонкой кишки	Хомячки	4,22	В С	120 г	6-18 мес.
Биомодель спонтанных опухолей матки	Хомячки	4,22 54,7	В В	120 г «	6-18 мес. «
Биомодель спонтанной доброкачественной аденомы коры надпочечников	Хомячки	4,24	В	120 г	6-18 мес.

Окончание табл. 46

Исследуемое действие вещества	Лабораторное животное	Линия или порода животного	Пол животного	Вес животного	Возраст животного
Высокочувствительная естественная биомодель к тератогенному действию лекарственных средств	Хомячки	4,24 45,5	В С В С	120 г «	6-18 мес. «
Биомодель карциномы железистого желудка под воздействием триметилхолантрена	Хомячки	15,16	В С	120 г	6-18 мес.
Высокочувствительная биомодель фибросаркомной опухоли, индуцированной диметилбензантраценом	Хомячки	15,16	В С	120 г	6-18 мес.
Биомодель рака молочной железы, индуцированного метилхолантреном	Хомячки	15,16 54,7	В В В В	120 г «	6-18 мес. «
Биомодель опухолей желудка, индуцированных N-нитронатрийэтиламином и N-нитронатрийметиламином	Хомячки	87,20	В С	120 г	6-18 мес.

Гомозиготность и генетическая однородность животных дают возможность воспроизвести эксперимент многократно и в любой лаборатории мира с одним и тем же результатом. Это повышает надежность медико-биологических исследований. Но есть и сложности. Они, как ни странно, множатся с увеличением количества новых штаммов животных по принципу «больше штаммов — труднее выбор». Правильность и обоснованность выбора адекватной биомодели может быть достигнута лишь в комплексе специалистов по генетике лабораторных животных, с одной стороны, и экспериментаторов и испытателей — с другой.

Глава 9 ИНБРЕДНЫЕ ЖИВОТНЫЕ-БИОМОДЕЛИ

Линейные или инбредные животные представляют закрепленный инбридингом генотип. Они гомозиготны и генетически однородны. Линейные животные обеспечивают полноценную воспроизводимость результатов и возможность их повторения в любой лаборатории. Генетическая однородность позволяет расходовать меньшее число животных для получения доказательных результатов. [385, 468, 469].

Не секрет, что для некоторых, а возможно и многих экспериментаторов, к которым честно отношу и себя, или иных пользователей лабораторными животными, результаты генетических исследований представляются в виде продукта неких магических и тайных игр «касты избранных». Поэтому не будем перегружать изложение избыточными специальными терминами.

Остановимся на самых общих представлениях. В инбредных линиях генетическая однородность, или гомозиготность, животных сохраняется постоянным спариванием родных братьев и сестер в племенном ядре линии. Племенное ядро линии представляет собой группу животных одной линии, размножаемую в соотношении 1:1 родных братьев и сестер.

Если инбредная линия поддерживается в коллекции для сохранения ее уникального генотипа и нет необходимости в большом количестве животных, достаточно иметь племенное ядро и ограни-

читься работой с ним. Если животных необходимо тиражировать, то племядро передается в питомники.

В филиалах НЦБМТ РАМН ведется работа по разведению линейных животных для использования в экспериментах. К работе с племенными ядрами инбредных линий допускаются лица, имеющие биологическое или зоотехническое образование и прошедшие соответствующую стажировку.

Но даже при тщательном соблюдении всех правил содержания инбредных животных существует опасность возникновения генетической изменчивости, гетерозиготности в высокоинбредных линиях. Причиной могут быть спонтанные мутации или случайные скрещивания [42, 67–72, 163, 179, 180, 391, 598, 599].

Если в процессе экспериментов было случайное скрещивание с животными другого генотипа, восстановить гомозиготность линии, сохранив исходный генотип, практически невозможно. Такие животные подлежат уничтожению.

Для гарантии гомозиготности животных инбредных линий необходимо контролировать их однородность по генетическим признакам.

Для контроля генетической однородности инбредных линий мышей и крыс применяется реципрокная изотрансплантация кожи. Она позволяет контролировать гомозиготность по большому числу генов, так как совместимость тканей — полигенный признак. Этот прием дает возможность выявить очень слабые генетические различия между животными одной линии, обусловленные остаточной гетерозиготностью или спонтанными мутациями. Метод технически достаточно прост и не требует больших материальных затрат. Мышей и крыс для контроля отбирают в возрасте 25–30 дней. Трансплантация осуществляется на 2–3 месячных мышах и 3–3,5-месячных крысах, но не раньше 6-недельного возраста. Существуют и другие методы, но их описание не входит в наши задачи. Это иная область, в которой работают совершенно иные профессионалы.

Генетический мониторинг

Не вызывает сомнения тот факт, что «генетическое заражение» нарушает чистоту линии животных и достоверность результатов эксперимента. Генетический контроль не может предотвратить «генетического заражения», но, тем не менее, является важным методом обеспечения генетической качественности лабораторных животных. Генетический контроль может быть разделен на три категории:

характеризация — проводится для подтверждения генотипа инбредных линий и для создания генотипа новых линий путем проверки возможно большего числа локусов;

мониторинг I — проводится с целью подтверждения генетического профиля;

мониторинг II — проводится для подтверждения критических подгрупп, которые представляют собой минимальный набор отдельных локусов, позволяющих выделять данную группу животных в обособленную линию.

В генетическом контроле локусов, позволяющем выделять животных в отдельную лабораторную линию, называются *маркерами*. В соответствии с биологическими функциями маркеры делятся на шесть групп: *биохимические*, *морфологические*, *иммуногенетические*, *молекулярные генетические*, *фармакогенетические* и *цитогенетические*. Для избрания локусов в качестве маркеров для генетического анализа их обнаружение должно быть точным, простым в исполнении, эффективным и экономичным. Наиболее подходящие маркеры были найдены в биохимической и иммуногенетической группе, поскольку количество локусов в них известно лучше, чем в других маркерах, и их обнаружение проще в осуществлении. Для работы достаточно 19 маркеров: 15 биохимических и 4 иммуногенетических. Предложена следующая схема генетического контроля. Каждая линия сразу после внедрения должна пройти характеризацию в целях подтверждения генотипа. Если внедряемая линия соответствует ожидаемым характеристикам, она периодически (раз в год) подвергается *мониторингу I*. Через несколько лет после внедрения вновь проводят процедуру характеризации. *Мониторинг II* проводится по необходимости. Эффективным механизмом контроля является сверка критических подгрупп. Критические подгруппы представляют собой ряд локусов, строго отобранных из генетических профилей ограниченных инбредных линий. Например, пять наиболее часто встречающихся инбредных линий (AKR, C3H/He, DBA/2, BALB/c и C57BL/6) можно распознать, используя четыре биохимических маркера (Hbb, Car-2, Gpi-1, Idh-1). Количество маркеров критических подгрупп зависит от количества проверяемых линий, но обычно не больше пяти.

Криогенное сохранение эмбрионов

Из эмбрионов мышей, замороженных в жидком азоте 12-15 лет назад, были успешно получены молодые особи животных. Несмотря на то, что были предприняты экспериментальные попытки применить данный метод сохранения к другим видам (включая человека), предстоит глубже изучить его, прежде чем использовать на постоянной основе в отношении различных видов живых существ [240]. Основными причинами криогенной заморозки, например, эмбрионов мышей являются следующие:

- ✓ гарантия того, что вся линия или популяция не будет потеряна в результате болезни или несчастного случая;
- ✓ криогенная заморозка – наиболее экономичный метод поддержания значительного количества будущих особей, необходимости в которых в данный момент нет, но может вскоре возникнуть;

- ✓ криогенная заморозка может использоваться для перевозки по воздуху коллекционных или редких линий;
- ✓ криогенное сохранение используется для предотвращения генных изменений в инбредных линиях, вызванных аккумуляцией мутаций;
- ✓ криогенно замороженные эмбрионы используются для экспериментов в области преимплантационной эмбриологии;
- ✓ создание популяции для получения высококачественных и достоверных экспериментальных данных.

Для проведения успешного криогенного сохранения эмбрионов мышей необходимо недорогое, но качественное оборудование, реактивы высокой степени очистки, но главное — специалисты в области преимплантационной эмбриологии, имеющие успешный опыт криогенного сохранения эмбрионов. Оборудование, необходимое для криогенной заморозки, включает в себя частично опорожненные колбы, приспособления для обращения с жидким азотом, CO_2-инкубаторы, термопары, регистрирующий прибор и бинокулярные микроскопы.

Донорами эмбрионов обычно являются препубертатные мыши в возрасте около 21 дня. С помощью сыворотки беременной кобылы и человеческого хорионического гонадотропина у самок вызывают гиперовуляцию и затем их спаривают с племенными самцами. Доказательством успешного спаривания является наличие вагинальной пробки, со дня ее обнаружения начинается отсчет дней. На третий день мышь убивают и извлекают матку и фаллопиевы трубы. Из фаллопиевых труб с помощью соответствующего инструмента вымываются эмбрионы, которые на этот момент должны находиться на стадии 8-клеточного развития. Далее, из общей массы эмбрионов выбраковываются поврежденные или недоразвившиеся. Оставшиеся эмбрионы в среде с соответствующим криопротектором (диметилсульфоксид) помещают в пробирки или трубочки, подготовленные для заморозки. Далее они охлаждаются до почти полной заморозки и колбы закупориваются кристаллом льда для предотвращения переохлаждения. После этого эмбрионы замораживают. Обычно скорость охлаждения низкая (около 0,4 градуса в минуту). С момента достижения эмбрионами температуры -80^{O} С скорость охлаждения можно увеличить, пока степень заморозки не будет соответствовать температуре жидкого азота (-196^{O} С). При этой температуре эмбрионы могут сохраняться неограниченное количество времени.

Когда возникает необходимость в эмбрионах, их размораживают, используя принятый в лаборатории метод. Обычно это происходит при комнатной температуре или в ванне с температурой воды 37^{O} С. Неповрежденные эмбрионы отбирают, омывают и выращивают 24 часа в подходящей среде в CO_2-инкубаторе. Если эмбрионы жизнеспособны, они развиваются в бластоцисту, подходящую для имплантации.

За 2 дня до размораживания эмбрионов нескольких псевдобеременных мышей, будущих суррогатных матерей, подготавливают к приему эмбрионов путем спаривания со стерильным самцом (стерилизованным с помощью вазектомии или генетически стерильным). Будущая суррогатная мать получает анестезию, ей делают один кожный надрез и далее по надрезу в верхней брюшине по обеим сторонам от позвоночника с тем, чтобы обнажить боковые стороны матки. С обеих сторон матки делается по маленькому надрезу, через которые помещается 4–6 эмбрионов. Кожный надрез закрывается с помощью зажима. Если операция прошла успешно, через 18–19 дней должны родиться мышата. Квалифицированный специалист может получить 30–40% жизнеспособных молодых особей из общего количества замороженных эмбрионов.

Инбредные линии кроликов

В поддержании и использовании в эксперименте инбредных кроликов важная роль принадлежит их ранжированию. Ранжирование зависит от того, какие конкретно штаммы были включены в исследования, и может меняться в результате взаимодействия между генотипом и окружающей средой. Были исследованы эстеразы сыворотки преальбумина у перечисленных здесь штаммов. Во многих штаммах фенотипы были единообразными, как и следует ожидать от штаммов с высокой степенью инбридинга. Отсутствие аллели $Est\text{-}3^D$ в материале было заметно, так как она является преобладающей аллелью в колониях диких кроликов.

A/J

Инбридинг 95%. Альбиносный штамм, выведенный Чаи (Chai) в 1958 г. из материала, состоящего на 50% из III, на 25% из R (R имеет то же происхождение, что и штаммы B и Y) и на 25% из разных штаммов. Разделение по ангорскому гену l. Вес тела зрелой особи приблизительно 2500–2700 г. Генотип крови Hg^F. Генотип гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^4/Ab^4. Высокое артериальное давление крови. Высокий гематокрит крови (самцы, самки). Высокий гемоглобин крови. Высокие уровни азота мочевины крови, низкий уровень сывороточного сахара, низкий уровень сывороточного фосфора и низкий уровень сывороточных общих белков у самок.

AC/J

Инбридинг 85%. Черный, с отступающими белыми отметинами ($aaE^dE^ddu^ddu^d$). Выведен Сауином (Sawin) из голландского материала Луизы Пирс (Louise Pearce) в Институте Рокфеллера (Rockefeller Inst). Скрещен с X и прочими штаммами и впоследствии подвергнут инбридингу с селекцией на ген хондродистрофии. Вес зрелой особи составляет около 2400 г. Генотип

гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^5/Ab^5, Ac^7/Ac^7. Имеет рецессивный ген хондродистрофии *ac*. У гомозигот уменьшенный размер, непропорционально уменьшенные конечности и большая голова. Хрящ аномален, и имеется заметный недостаток окостенения. Животные умирают при рождении или вскоре после рождения. Состояние напоминает изменения, встречающиеся у человека, скота и собак. Штамм также имеет ген расщелины позвоночника (*sb*). Гомозиготы имеют расщепленный позвоночник, переходящий из заднего свода черепа в хвост, покрытый тонким слоем кожи. У большинства животных – расщепленная губа, расщепленное нёбо, заметная деформация позвоночника и загибающийся к брюху конец хвоста. Также имеют место и другие аномалии. Приблизительно у 50% особей есть добавочные селезенки. Печеночная ариловая углеводородная гидроксилаза не индуцируется. Низкое артериальное давление крови. Низкая способность связывания сывороточного железа. Низкий уровень серопротеинсвязанного йода. Высокие уровни гормонов роста у самок.

ACEP/J

Инбридинг 93%. Голубоглазые белые (v/v) голландского происхождения, селектированные Сауином в 1951 г. для исследования предрасположенности к аудиогенным судорогам, которые во многих отношениях похожи на судороги, обнаруженные у некоторых инбредных штаммов мышей. Судороги вызваны рецессивным геном *ep*. Генотип гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^5/Ab^5, Ac^{21}/Ac^{21}. Животные имеют малые размеры, отличаются гиперактивностью, вес тела зрелой особи составляет приблизительно 2400 г. Штамм также отличается генной гипогонадией (*hg*), в связи с чем оба пола стерильны. У самцов сперматогенные канальцы имеют малый размер и лишь один ряд клеток Сертоли. Аномальные яичники имеют малый размер и лишены фолликул. Степень аномальности бывает различной. Либидо нормальное. Ариловая углеводородная гидроксилаза не индуцируется. Высокое артериальное давление крови у самцов и самок. Высокие уровни сывороточного железа у самок. Низкий гематокрит (самцы, самки). Высокое общее содержание сывороточного холестерина у самок. Высокий уровень серопротеинсвязанного йода у самок. Высокие уровни гормонов роста. Высокие уровни сывороточной щелочной фосфатазы у самок, высокие уровни сывороточного фосфора у самок и низкие уровни сывороточного общего белка у самцов.

AX/J

Инбридинг 82%. Штамм шиншиллы (c^{ch3}, c^{ch3}, *AAww*), выведенный Сауином в 1927 г. из материала Института Басси (Bussey Institute). Этот материал сначала был назван «семейством IIb», а затем – «семейством V». Материал был селектирован по гену атаксии после того, как этот порок наблюдался

впервые в 1936 г. Он был скрещен со штаммами X и III, получил название AX в 1943 г. Генотип гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^4/Ab^4, Ac^7/Ac^{21}.

Вес зрелой особи составляет 3500 г. Имеет рецессивный ген атаксии (*ax*). У гомозигот наблюдается прогрессивный паралич, который начинается в возрасте приблизительно 2 месяцев. Он начинается с задних лап, но быстро прогрессирует и приводит к чрезвычайной возбудимости, неспособности принимать пищу или пить, нерегулярности дыхания и смерти. Гистологически атаксия связана с регрессивным изменением в ворсистых окончаниях коры мозжечка. Низкая частота пульса у самок. Высокая способность связывания сывороточного общего железа у самцов. Высокий гематокрит у самцов, низкие уровни гемоглобина крови у самок, но высокие у самцов. Высокое общее содержание холестерина в плазме. Низкий уровень серопротеинсвязанного йода. Низкие уровни сывороточного сахара (самцы, самки), низкие уровни сывороточного фосфора у самок.

Таблица 47

Основные биохимические параметры крови инбредных кроликов

Параметры	Уровни	
	Высокие	Низкие
Гематокрит крови	A/J, X/Y(B), AX/J(C)	B/J, Y/J, ACEP/J
Гемоглобин крови	A/J, AX/J(C), AXBU/J(C)	AX/J(B), C/J, Y/J
Сывороточный сахар	X/J	AJ, AX/J, B/J
Азот мочевины крови	AJ, B/J(B), Y/J	C/J
Общий уровень серопротеинов	X/J, Y/J	AJ(B)
Связывание сывороточного железа	ACEP/J(B), AX/J(C), B/J(B) Y/J, III/J	AC/J(B), AXBU/J(C)
Серопротеинсвязанный йод	ACEP/J(B), Y/J(C), III/J	AC/J, AX/J
Уровни гормона роста	AC/J(B), ACEP/J, C/J,Y/J(C)	AXBU/J(C)
Уровень сывороточного фосфора	ACEP/J(B), X/J(C), Y/J	A/J, ACEP/J(C), AX/J(B)
Содержание сывороточного холестерина	ACEP/J(B), AX/J, B/J(C)	B/J(B), X/J(C)
Сывороточная щелочная фосфотаза	ACEP/J(B), C/J, X/J*	B/J

AXBU/J

Инбридинг 82%. Альбиносный (*cc*) штамм, выведенный Сауином из мутации, вызывающей буфтальм в материале AX, и выделенный в 1967 г. Ранее назывался AXbubu. Генотип гамма-глобулина Ab^4/Ab^4, Ac^7/Ac^{21}. Вес тела зрелой особи составляет приблизительно 3500 г. Рецессивный ген bu вызы-

вает болезнь, подобную детской глаукоме у человека. Он повышает внутриглазное давление, диаметр роговицы, васкулярность роговицы, способствует помутнению роговицы и ороговению, препятствует оттоку жидкости из глаза и может приводить к атрофии зрительного нерва. У самцов снижается скорость сперматогенеза. Причиной этого порока может являться дефект обмена β-каротина или витамина А. Уровни аскорбата во внутриглазной жидкости заметно снижаются у животных с тяжелой формой болезни. У самцов из этого штамма наблюдается низкий уровень сывороточного железа. Высокий уровень гемоглобина крови — у самцов. Низкий уровень гормонов роста плазмы — у самок.

B/J

Инбридинг 91% (также называется ACCR (B)). Выведен Сауином из 62,5% голландского материала, 6,25% X, 7,8% IIIc и прочего остального материала. Коуэну на F3 и Чаи на F7. Альбинос, атласный (c/c, sa/sa, du^d/du^d). Генотип крови Hg^F/Hg^F. Гистосовместимый. Генотип гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^5/Ab^5, Ac^7/Ac^7. Вес тела приблизительно 2000 г. Высокое артериальное давление крови (самцы, самки). Низкая способность связывания общего сывороточного железа у самок. Низкий гематокрит крови (самцы, самки). Высокое общее содержание холестерина в плазме у самцов, но низкое у самок. Высокие уровни азота мочевины крови у самок, низкие уровни сывороточного сахара и сывороточной щелочной фосфатазы у самцов и самок.

C/J

Инбридинг 85%. Штамм дикой (*AA*) или черной (*aa*) окраски, выведенный Чаи в 1958 году из материала, состоящего на 50% из III, на 25% из R_6 (R имеет то же происхождение, что и штаммы Y и B) и на 25% из разного материала. Генотип гамма-глобулина Aa^1/Aa^1, Ab^4/Ab^4, Ac^7/Ac^7. Характеристики: вес тела – приблизительно 2950 г, низкая частота пульса у самцов; интенсивный иммунный ответ на Glu^{56}, Lys^{38}, Tyr^6; низкие уровни гемоглобина крови (самцы, самки); высокие уровни гормонов роста плазмы (самцы, самки); низкие уровни азота мочевины крови, высокие уровни сывороточной щелочной фосфатазы (как у самцов, так и самок).

X/J

Инбридинг 88%. Материал темно-желтого окраса ($C/c^{ch}/aaeebb$), выведенный в 20-х годах XX века в результате гибридизации мелкого штамма *A* Касла (Castle) с прочим материалом. В 1935 г. был введен ген Dw, который впоследствии был перенесен на штамм III. Штамм имеет 12 ребер и использовался Сауином в исследованиях роста. Генотип гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^4/Ab^4, Ac^7/Ac^7. Вес тела зрелой особи составляет приблизительно 2000 г. Имеет рецессивно наследуемый по аутосоме ген *ha* (гемолитическая анемия), вызы-

вающий иммунопатию, похожую на ту, что встречается у мышей NZB. Пострадавшие животные бледные и слабые. В некоторых формах возникает тяжелая форма желтухи. Среднее время выживания составляет приблизительно 5 месяцев. При вскрытии обнаруживается гемоглобинемия, желтуха, бледность печени с субкапсулярным кровотечением, геморрагическая селезенка и гемоглобинурия. Штамм также характеризуется тем, что около 49% особей имеют добавочные селезенки. Печеночные ариловые углеводороды не индуцируются. Низкое артериальное давление крови. Слабый иммунный ответ на Glu^{56}, Lys^{38}, Tyr^{6}. Высокий гематокрит крови у самок. Низкое общее содержание холестерина в плазме у самцов. Высокие уровни сывороточного сахара, очень высокие уровни сывороточной щелочной фосфатазы, приблизительно в два раза выше, чем у других штаммов, высокий уровень сывороточного фосфора у самцов и высокие уровни общих серопротеинов у самцов и самок.

Y/J

Инбридинг 84%. Также называется ACCR (Y). Альбиносный штамм (*cc, sa, sa*), состоящий на 62,5% из голландского материала из Института Рокфеллера, имеет гены *ac, cr* и *ep* с небольшим процентом X, III, IIIc и прочего материала. Коуэну на F2 и Чаи на приблизительно F7. Тип гамма-глобулина Aa^3/Aa^3, Ab^5/Ab^5. Вес тела приблизительно 2300 г. Гистосовместимый. Около 42% особей имеют добавочные селезенки. Высокая способность связывания сывороточного железа (самцы, самки). Низкий гематокрит (самцы, самки), низкий гемоглобин крови. Высокие уровни связанного серопротеинами йода у самцов. Высокие уровни гормонов роста плазмы у самцов. Как у самок, так и у самцов высокие уровни азота мочевины крови, высокое содержание сывороточного фосфора, высокий общий уровень серопротеинов.

III/J

Инбридинг 81%. Альбиносный штамм (*c/c, A/A*, E^d/E^d), выведен Сауином из новозеландского белого штамма Касла в 1932 г. Штамм ранее назывался III или IIImo. Генотип гамма-глобулина Aa^1/Aa^1, Ab^4/Ab^4, Ac^7/Ac^7. Этот очень спокойный штамм был селектирован для пресакрального роста, имеет 13 ребер и был использован в исследованиях роста и развития. Высокий продуцент антител. Кровные родственники принимают кожные трансплантаты. Из этого же материала выведены семь дополнительных штаммов или подштаммов. Вес тела зрелой особи составляет приблизительно 3800 г. Печеночная ариловая углеводородная гидроксилаза не индуцируется (в отличие от пяти прочих штаммов). Низкая частота пульса у самок. Высокий иммунный ответ на Glu^{56}, Lys^{38}, Tyr^{6}. Высокие уровни сывороточного железа. Как у самцов, так и у самок — высокие уровни серопротеинсвязанного йода.

Инбредные линии морских свинок

Линия 2 (Family 2, Strain 2, STR 2)

Инбридинг 92%. Генотип *a, e^p, s.* Окраска шерсти трехцветная: черно-рыже-белая. Из Министерства сельского хозяйства США (где разводились с 1906 г.) попали к Райту на F11 и поддерживались братско-сестринским скрещиванием на протяжении 33 поколений до 1933 г., затем размножались рандомбредно до 1940 г., когда линия перешла к Хестону, который возобновил систему братско-сестринского разведения. В 1950 г. на FI2 линия была передана в Национальный институт здравоохранения (г. Бетесда, США); все сублинии, отделившиеся впоследствии, происходят из этого института. Гистосовместимы. Относительно резистентны к туберкулезу. В сублинии N со средней частотой встречаются случаи кальцификации (обызвествления) в области большой кривизны желудка, ободочной кишки, почек, полосатой мускулатуры брюшной стенки, легких и аорты у старых животных (в 34 месяца) [206, 207, 208]. Дают ответ на PLL, имеют антигены GPL-A-B.1. Вес тела самки 780 ± 69 г, самца — 802 ± 65 г. Относительный вес органов (грамм на 1 кг живого веса): печень самки — 37,45, самца — 31,63; легкие самки — 6,64, самца — 6,50; сердце самки — 2,65, самца — 2,64; щитовидная железа самки — 0,074, самца — 0,076; почки самки — 3,58, самца — 3,67; надпочечники самки — 0,505, самца — 0,501; селезенка самки — 1,32, самца — 0,97 [206, 207, 208].

Репродуктивность средняя: «деловая» плодовитость 7,1 на самку в год; средняя величина помета при отъеме $2{,}48^{+0{,}03}$ [206, 207, 208].

Линия 13 (Family 13, Strain 13, STR 13)

Инбридинг 93%. Генотип *a, e^P, s*. Окраска шерсти трехцветная: черно-рыже-белая. Происхождение такое же, как у линии 2. К Райту попали в 1915 г. на F13, инбредировались на протяжении 33 поколений (до 1933 г.), затем разводились рандомбредно до 1940 г., после чего снова инбредировались. В Национальный институт здравоохранения были переданы в 1950 г. на F12. Все последующие сублинии происходят из этой колонии, гистосовместимы, более чувствительны к туберкулезу, чем линия 2. Не дают ответа на PLL, имеют антиген GPL-A-B.1. Более крупные по величине, чем линия 2. Вес тела самки составляет 940 ± 99 г, самца — 1044 ± 69 г [208]. Относительный вес органов (грамм на 1 кг живого веса): печень самки — 37,76, самца — 32,27; легкие самки — 7,91, самца — 6,92; сердце самки — 2,40, самца — 2,31; щитовидная железа самки — 0,097, самца — 0,075; почки самки — 2,48, самца — 2,46; надпочечники самки — 0,302, самца — 0,297; селезенка самки — 0,99, самца — 0,699 [207]. Репродуктивность средняя: «деловая» плодовитость 5,5 на самку в год; средняя величина помета при отъеме 2,69 ± 0,06 [208]. Сексуальное поведение менее активное, чем у морских свинок линии Family 2.

B/Lac

Инбридинг 82%.Генотип e^p, *n*. Выведены Лундбергом в Институте сывороток (Копенгаген) селекцией на резистентность анафилаксии, вызываемой яичным альбумином. Переданы в Национальный институт медицинских исследований (Лондон) в 1966 г., а в 1976 г. — в Центр лабораторных животных (Lac). Большинство кожных трансплантатов приживается без последующего отторжения. Резистентны к анафилаксии, вызываемой яичным альбумином [206]. Полиморфны по локусу PGM (фосфоглюкомутаза), несут аллели PGM^1 и PGM^2 [116]. Вес тела самки 1036 г, самца — 1093 г. Относительный вес органов (грамм на 1 кг живого веса): селезенка самки — 0,6, самца 0,51; тимус самки — 0,35, самца — 0,29; надпочечники самки — 0,50, самца — 0,24; мозг самки — 4,11, самца — 4,00. Средняя плодовитость: по числу рожденных на одну самку в год — 10,4, по числу выкормленных — 9,3; средняя величина помета — 2,5; смертность до отъема — 11%.

OM3/Lac

Инбридинг 76%. Генотип e^p, *s*, *Y*. Заложена Роджерсом в 1952 г. из рандомбредного коммерческого стока, затем передана в Эллингтон-Фарм в 1964 г., а оттуда — в Центр лабораторных животных (Lac) в 1965 г. Нет спонтанных опухолей. Отсутствует токсемия беременности [208]. Несут аллель PGM^1 (фосфоглюкомутаза) [208]. Хорошо размножаются. Средняя плодовитость: по числу рожденных на одну самку в год 6,5; по числу выкормленных — 5,6, средняя величина помета — 2,3, смертность до отъема — 14%.

R9/Lac

Инбридинг 75%. Генотип e^p, *s*, *n*. Заложены Роджерсом в 1941 г. от рандомбредных предков. В Центр лабораторных животных (Lac) поступила в 1965 г. из Эллингтон-Фарм. Частота спонтанных опухолей в возрасте свыше 3 лет составляет 14% [208]. Несут аллель PGM^2 (фосфоглюкомутаза) [116]. Показатели крови следующие: количество эритроцитов (миллионов на 1 мм^3) — самки 4,45–5,48, самцы 5,70–4,88; гемоглобин (грамм на 100 см^3): самки 12,11–12,3, самцы 12,5–13,54; гематокрит — самцы 40,4–42,9%, самки 39,0–40,4%; количество лейкоцитов (тысяч на 1 мм^3) — самки 3,68–4,46, самцы 3,68–4,73 [643, 668;]. Вес тела самки 844 г, самца — 971 г. Относительный вес органов (грамм на 1 кг живого веса): селезенка самки — 1,23, самца — 0,84; тимус самки — 0,24, самца — 0,29; надпочечники самки — 0,44, самца — 0,42, мозг самки — 4,50, самца — 4,29 [643]. Средняя плодовитость по числу рожденных на одну самку в год 8,3; по числу выкормленных — 7,0; средняя величина помета — 2,5; смертность до отъема — 16%. Средняя продолжительность жизни более 4 лет.

IMM/R

Инбридинг 81%. Генотип *c, e^p, z*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Заложена Лундбергом из колонии морских свинок-альбиносов (Копенгаген). Отселектированы на резистентность к анафилаксии, вызываемой яичным альбумином. Спонтанных опухолей нет. Более восприимчивы к инфекциям, чем IMM/S. Не дают анафилактических реакций и не продуцируют антител против яичного альбумина (в количестве, поддающемся измерению). Плохо размножаются [206, 207, 208].

IMM/S

Инбридинг 83%. Генотип *c, e^p, z*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Продукция антител такая же, как у IMM/R. Отселектированы на чувствительность к анафилаксии, вызываемой яичным альбумином. Спонтанных опухолей нет. Крайне сильная анафилактическая реакция у 100% животных на ингаляцию яичного альбумина в очень низких дозах. Хорошо продуцируют антитела. Мало восприимчивы к инфекциям. Размножаются хорошо.

Инбредные линии крыс

Как и инбредные мыши линии крыс обозначены нами в соответствии с международной номенклатурой. Инбридинг в линиях (F), разводимых в России, указан, как и в линиях мышей, по данным на декабрь 2004 г. Происхождение и характеристики линий крыс, кроме особо оговоренных случаев, даются в соответствии с общепринятыми стандартами.

AUG/LacSto **Поддерживаются в Sto (August)**

Инбридинг F68. Генотип *h, p*. Окраска шерсти: капюшон осветленный (цвета кофе с молоком), остальная часть белая. Выведены от одной из сублиний. В Sto поступили в 1958 г. из Lac на F16. A990, A7332, A28807 и A35322 — линии, родственные AUG, которые иногда также называют «Август». Обладают сходными биологическими характеристиками, но различаются по генам окраски. Встречаются гепатомы, которые могут трансплантироваться. Чувствительны к экспериментальному аллергическому энцефалиту. Чувствительны к Haemophilus bronchosepthicum. Резистентны к индукции аутоиммунного тиреоидита [206, 207, 208]. В Sto живой вес крыс в возрасте 1 месяца у самок составляет 43,1 г, у самцов 44,4 г, в 3 месяца самки весят 127,2 г, самцы — 157,7 г, в 9 месяцев самки — 196,0 ± 1,29 г, самцы — 285,8 ± 1,93 г. Обладают высокой жизнеспособностью и плодовитостью. В Sto величина помета при рождении составляет 6,57, при отъеме — 6,37 ± 0,10 крысят.

F344/N **Поддерживаются в Sto (Fischer 344, Fischer) До 1980 г. Y**

Инбридинг F141. Генотип *a, c, h*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Начал инбредировать Куртис в 1920 г. в Институте раковых исследований Колумбийского университета (США). В Y в 1976 г. на F130, переданы в Sto на F132. Небольшой размер тела. Частота опухолей молочных желез составляет 41% у самок и 23% у самцов. Аденомы гипофиза у 36% самок и 24% самцов. Частота интерстициально-клеточных опухолей семенников колеблется от 65 до 85% в разных сублиниях. Карциномы щитовидной железы встречаются у 22% крыс этой линии, мононуклеарно-клеточная лейкемия у 24%. Полиплоидные опухоли эндометрия матки развиваются у 21% самок, подкожные фиброаденомы у 9% самок, узелковая гиперплазия печени у 5% животных обоих полов.

Частота опухолей в условиях SPF следующая: лейкемия у 26% самцов и у 36% самок; опухоли молочных желез у 12% самцов и у 20% самок; опухоли других локализаций у 9% самцов и у 5% самок. Крысы линии F344 дают рост следующих трансплантируемых опухолей: гепатома Даннинга, гепатома LC-18, гепатома Novikoff, карцинома молочных желез HMC и R-3230, опухоли гипофиза MtT и MtTf, карциносаркома Walker-256, лейкемия Даннинга, лейкемия HLF1, IRC-741 и R-3149, лимфосаркома R-3251, фиброма молочных желез F609, фибромосаркома R-3244, саркомы IPS 9802 и R13259, саркома матки F529, а также лейкемии R-3323, 3330, 3399 и 3432.

Сублиния N обеспечивает рост трансплантируемых опухолей 1RC741, IRS1548, L = C18, R3244, R3149, R3330, R3323, R3432, R3604, IRS9802, R3211, R3230, R3251, R3259 и трех типов аденокарцином молочных желез. В этой сублинии наблюдаются спонтанные опухоли передней доли гипофиза у 15% крыс, опухоли клеток Лейдига у 30–50%, встречаются грануломатозные поражения лимфатических узлов и печени. Особенности морфологии хромосом: № 3 — субтелоцентрическая, X-хромосома — телоцентрическая, № 4 и № 9 имеют большую С-полосу, № 5 и № 7 не обнаруживают С-исчерченности или она слабо выражена.

Отиты обнаруживаются у 40–60% старых животных, бронхоэктазы у 61–70%, нефриты у 21–30%, миокардиты у 21–30%. У молодых крыс нефриты возникают редко. Отмечен высокий метаболизм этилморфина и анилина в печени у самцов. Резистентны к развитию солевой гипертензии. Имеют высокую специфическую активность, но низкую способность к индукции редуктазы НАДФ-цитохрома С (по сравнению с аутбредными крысами Sprague – Dawley). Чувствительны к индукции опухолей молочных желез 2-ацетиламинофлюорином. У животных происходит быстрая абсорбция имплантированных таблеток диэтилстилбэстрола, что приводит к смерти. Уровень LD_{50} к действию раствора пентабарбитала (70 мг/кг) низкий. Чувствительны к цистецеркозу. Уровень инсулина в сыворотке низкий. Низкий

первичный и вторичный иммунный ответ на эритроциты барана [208]. Антигены Т-лимфоцитов: *Ly-1⁺, Ly-2,1⁻, Ly-2,2⁺* [676].

Средняя продолжительность жизни составляет, по данным разных авторов, 24–31 месяц у самцов и 22,5–29 месяцев у самок. Хорошо размножаются, средняя величина помета (1/12). У самцов низкий уровень дефекации в открытом поле. Активность в колесе (как у самцов, так и у самок) низкая [208].

MSUBL/Icgn **(Строевой)**

Инбридинг F66. Генотип *a*. Окраска шерсти черная. Выведены О.Г. Строевой в Институте биологии развития РАН от скрещивания диких крыс с MSU-микрофтальмическими крысами, полученными от Броумана из Университета штата Монтана. Затем были переведены в Институт цитологии и генетики СО РАМН (Новосибирск). Высокая частота микрофтальмии и анофтальмии. Высокая реактивность надпочечников к АКТГ.

WAG/GSto **Поддерживаются Sto (Wistar albino Glaxo)**

Инбридинг F109. Генотип *a, c*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Выведены Бачарачем в 1924 г. от крыс Wistar. В филиал АМН СССР «Столбовая» (Sto) поступили в 1966 г. (5 пар) из Glaxo Laboratory на F?. Разные сублинии WAG имеют различные гены окраски, возможно, в прошлом было генетическое засорение. Поэтому необходимо указывать сублинейный символ. Частоты опухолей следующие: карцинома щитовидной железы 27–40%, феохромоцитома 20%, островковоклеточная аденома 1%. При средней продолжительности жизни 31 месяц у самок аденомы встречаются у 69%, аденома коры надпочечников — у 29%, фиброаденома молочных желез — у 21%. В группе из 290 животных этой линии были обнаружены опухоли 19 различных типов. Наблюдается высокая частота полиспермии. Резистентны к экспериментальному аллергическому энцефаломиелиту. Некоторые сублинии дают анафилактическую реакцию на декстран. Чувствительны к индукции аутоиммунных тиреоидитов, а также к дефициту железа. Имеют низкий вторичный ответ по антителам к полипептиду (T, G) Pro-L [208]. Вес тела крыс в возрасте 1 месяца: самки — 37,5 ± 0,81 г, самцы — 39,9 ± 0,85 г; в 3 месяца: самки — 154,1 ± 1,36 г, самцы — 207,7 ± 2,40 г; в 9 месяцев: самки — 228,2 ± 2,15 г, самцы — 332,0 ± 3,36 г. Плодовитость в Sto: число пометов на одну самку — 4,47 ± 0,14, величина помета при рождении — 7,08 ± 0,12, при отъеме — 6,1 ± 0,15 крысенка. Средняя продолжительность жизни превышает 31 месяц у самок и 22 месяца у самцов. Средняя величина помета — 8,7.

BDI

Инбридинг F101. Генотип *A, C, H, p*. Окраска шерсти желтая, розовоглазые. Их начал выводить Друкрей в 1937 г. из колонии желтых розовоглазых

крыс. Инбридированы были в конце 40-х годов XX века. Линия BD была получена скрещиванием с крысами Wistar с последующим инбридингом. Остальные линии этой группы (от BDIII до BDX) выведены от скрещивания первых двух линий BDI и BDII и селектированы по генам окраски. Однако линии BD имеют четыре различных гаплотипа H-1 *(AgB,* или *RT1* по новому обозначению): $H\text{-}1^d$, $H\text{-}1^W$, $H\text{-}1^ü$ и $H\text{-}1^e$ вместо двух, как следовало бы ожидать для подобного скрещивания. Все линии BD имеют низкую частоту опухолей при средней продолжительности жизни в 700–950 дней (в зависимости от линии). Антигены Т-лимфоцитов BDII: $Ly\text{-}1^-$, $Ly\text{-}2,1^-$; $Ly\text{-}2,2^+$; BDV: $Ly\text{-}1^+$, $Ly\text{-}2,2^+$, $Ly\text{-}2,1^-$; BDVII: $Ly\text{-}1^+$, $Ly\text{-}2,1^-$, $Ly\text{-}2,2^+$ [676]. BDII — высокая частота микрофтальмии; BDVII — дают низкий вторичный ответ по антителам к полипептиду (TG)-Pro-L [208]. BDVIII — иногда встречается вагинальная атрезия [208].

LEW **(Lewis, W/Lew)**

Инбридинг F97. Генотип *a, h, c*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Начал инбридировать Льюис из колонии. Обеспечивают рост трансплантируемых опухолей: лимфомы 8, саркомы почек, фибросаркомы MC-39, LM-1, ML-7, карциномы 10 Льюиса, саркомы 3 Льюиса (FEDEX-LEW, CaM-LEW). Чувствительны к индукции аллергического энцефаломиелита после воздействия основного белка миелина морских свинок. Высокочувствительны к индукции аутоиммунного миокардита и аутоиммунного гломерулонефрита (коррелирует с главным комплексом гистосовместимости). Наблюдаются адъювантиндуцированные артриты. Уровень метаболизма этилморфина у самок в печени высокий. Имеют высокий уровень тироксина, инсулина и ростового гормона в сыворотке [207, 208]. Антигены Т-лимфоцитов: $Ly\text{-}1^+$, $Ly\text{-}2,1^+$, $Ly\text{-}2,2^-$ [676]. Используются как инбредный партнер к ряду КР-линий. Становятся тучными на диетах с высоким содержанием жира. Высоко плодовиты. Послушны.

SHR (спонтанно-гипертензивные крысы)

Инбридинг F93. Генотип *c*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Выведены в Японии. Окамото в 1963 г. скрестил спонтанно-гипертензивного самца из колонии крыс Wistar в Киото с самкой, обладающей повышенным кровяным давлением. Селекция в процессе инбридинга велась на спонтанную гипертензию. Сублинии также селектировали на развитие цереброваскулярных поражений и параличей. Несмотря на высокую частоту гипертензии, не наблюдается явных поражений почек и надпочечников. Гипертензия очень тяжелая, кровяное давление часто свыше 200 мм рт. ст. Высокая частота сердечно-сосудистых заболеваний. Животные реагируют на антигипертензивные лекарства и являются подходящей моделью для скрининга антигипертензивного действия. У молодых SHR-крыс уровень норадреналина и допа-

минбета-гидроксилазы увеличен по сравнению с другими линиями, но общее количество катехоламинов одинаково. Содержание катехоламинов в надпочечниках уменьшено. Повышенный уровень циркулирующего тиротропина. Вес щитовидной железы ниже, чем у крыс Wistar.

WKY/N **(Kyoto—Wistar)**

Инбридинг F15 (находится в процессе выведения). Генотип *c*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Аутбредный сток крыс Wistar из Медицинской школы Киото (Япония) передан в Национальный институт здравоохранения (N) (г. Бетесда, США) в 1971 г. Линия селектировалась на нормальное давление крови как контрольная к SHR (в экспериментах с гипертензивными крысами SHR в качестве контроля по норме могут служить крысы любой инбредной линии с нормальным давлением крови). В отечественных исследованиях по физиологии высшей нервной деятельности были использованы крысы Крушинского-Молодкиной. Эти крысы не соответствуют стандартным требованиям, предъявляемым к животным инбредных линий, так как степень инбридинга точно не известна, поэтому для их обозначения больше подходит термин «сток».

Сток КМ **(Крысы Крушинского-Молодкиной)**

Аутбредный сток был заложен на основе популяции крыс Л.В. Крушинским и Л.Н. Молодкиной в 1947 г. На протяжении ряда поколений разводили, селектируя на высокую чувствительность к звуковому раздражителю (при ограниченном инбридинге).

Инбредные линии хомячков

Если принять во внимание историю использования лабораторных животных в биомоделировании, то можно сказать, что сирийские хомячки были одомашнены сравнительно недавно. Все лабораторные штаммы происходили от трех особей из одного помета, пойманных неподалеку от Алеппо в Сирии в 1930 году, хотя в 1971 г. были пойманы дополнительные животные. Необычная реакция сирийских хомячков на кожные аллотрансплантаты привлекла большое внимание. Во многих случаях пересадки кожи между членами закрытой (но не инбредной) колонии особи жили в течение неопределенного срока, хотя эти трансплантаты, сделанные между животными из разных колоний, могут отторгаться с такой же силой, как и других особей. Принятие пересаженной кожи, естественно, не означает, что штамм хомячка является полностью инбредным, как и в случае с большинством прочих особей.

На примере сирийских хомячков был тщательно изучен химический онкогенез. Большинство работ выполнялось на неинбредных животных. Считается, что большинство противоречащих результатов наблюдений, по-

лученных в ходе исследований химического онкогенеза у случайно разведенных хомячков, может быть объяснено генетическими различиями. Инбредные штаммы должны применяться гораздо шире.

Серьезной сравнительной работой на инбредных хомячках с применением трех из четырех штаммов продолжает оставаться работа Хомбургера и его коллег. Если имеются данные по нескольким штаммам, они ранжируются, а верхний и нижний квартили указываются хотя бы приблизительно.

Номенклатура инбредных штаммов хомячков стандартизирована лишь частично. Некоторые штаммы получили кодовые названия, подобные тем, что даны мышам. Совокупность инбредных штаммов, с которыми работали «Телако» (Telaco) и «Био-рисёч консалтентс» (Bio-Research Consultants), Кэмбридж и Массачусетс, имеет численную номенклатуру, основанную на генеалогических номерах самца и самки, которые были использованы для образования инбредного штамма, разделенных точкой. Пока не наступит ясность с разработкой стандартной системы номенклатуры, исследователям возможно использовать приведенные здесь названия штаммов.

ALAC

Инбридинг F74. Акромеланический альбиносный штамм, выведенный в Центре животных Лаборатории Совета по медицинским исследованиям (Lac), Великобритания, в 1966 году, из коммерческого аутбредного материала. Размножается удовлетворительно в составе моногамных пар, хотя не очень активно. Величина помета 5–6 детенышей, продуктивность — около 0,5 детенышей на самку в неделю.

RL

Инбридинг F71. Цвет рыжеватый. Происхождение: д-р П.Лемон (P. Lemond), Институт Армана-Фрапье (Armand-Frapier Inst., Монреаль), из помета, купленного у «Био-рисёч консалтентс» в 1961 г. Характеристики: средний жизненный цикл 687 ± 12 (максимум 961) дней в выборке из 202 самцов и 531 ± 8 (максимум 811) дней в выборке из 202 самок. Спонтанные опухоли: 6,9% у самцов и 2,5% у самок. Обычные причины смерти: интерстициальный нефрит, тромбоз левой ушной или легочной вен, при этом оба порока часто сопровождают друг друга, что приводит к отеку и водянке. Гиперволемия и серозная или геморрагическая киста печени, часто сопровождаемая нефритом и тромбозом. Крупный помет, но плодовитость зависит от сезона: от 29% в декабре–январе до 87% в апреле–октябре. Самки агрессивны и иногда убивают самцов при спаривании.

X3

Инбридинг F79. Акромеланический альбиносный штамм, выведенный «Био-рисёч консалтентс» из материала, поставленного Лакассом (LaCasse).

Средний жизненный цикл — 527 дней. Чувствителен к тератогенному действию лекарств. Относительно маленькие сердце, легкие и печень, но у животных в возрасте относительно большой вес печени у самок, малый вес сердца у самцов и малый вес почек. Первый помет появляется в позднем возрасте, малая величина помета.

X.68

Инбридинг F71. Акромеланический альбиносный штамм, выведенный из материала Швенткера (Schwentker) – Лакасса. Средний жизненный цикл составляет 531 день. Увеличение сердца приблизительно у 30% животных в возрасте. Амилоидоз и цирроз печени, наблюдаемые у самок в возрасте 1–2 года. У животных в возрасте низкий относительный вес печени и низкий относительный вес почек, большой относительный вес сердца. Первый помет в позднем возрасте.

1.5

Инбридинг F68. Акромеланический альбиносный штамм, выведенный из материала NIH. Длинный жизненный цикл — 590 дней. Предрасположен к зубному кариесу. Относительно умеренная кардиомиопатия. Первоисточник гена дистрофии, который в настоящее время перешел и на прочие штаммы, особенно на 14.6. Повышенный уровень сывороточной креатинфосфатной киназы перед наступлением клинических признаков дистрофии. Большое сердце и легкие, но маленькие яички в возрасте 180 дней. Малый размер помета. Малый относительный вес сердца у самцов в возрасте 200 дней. Предрасположен к образованию опухолей в результате действия бензпирена и триметилхолантрена у самцов и самок. Малый вес тела у взрослых особей (самцы и самки), большой размер помета, малая частота сердцебиений у взрослых самцов и самок.

1.26

Инбридинг F86. Акромеланический альбиносный штамм, выведенный из материала Лакасса – Швенткера. Короткий жизненный цикл — 476 дней. Малое скопление ткани бурого жира в межлопаточной области в возрасте 56 дней, малый размер щитовидной железы в возрасте 21 день, большой помет. У животных в возрасте большой относительный вес сердца у самцов, большой относительный вес почек у самцов. Малый вес тела у взрослых самцов и самок, большой помет, малая частота сердцебиений у взрослых животных обоего пола.

2.4 (син: LSH)

Инбридинг F79. Штамм дикой окраски, выведенный Лондонской школой гигиены и тропической медицины. Жизненный цикл средний — 532 дня. По данным Хомбургера и Никсона (Nixon), у этого штамма развивается доброка-

чественная гипертрофия предстательной железы, но не смогли подтвердить этот факт, что означает наличие либо различий между сублиниями, либо неустановленный компонент окружающей среды. Цирроз и амилоидоз печени наблюдаются у самок в возрасте 1–2 лет. Относительно стоек к аденовирусу типа 12 по сравнению с аутбредным материалом. Большой относительный вес печени (самцы и самки) и малый относительный вес почек у самцов.

4.22

Инбридинг F94. Штамм дикой окраски, выведенный из материала Швенткера. Жизненный цикл короткий — 481 день. Увеличение сердца происходит приблизительно в 30% случаев у животных в возрасте 90–100 дней. Амилоидоз и цирроз печени наблюдаются у самок в возрасте 1–1,5 лет. Относительно стоек к появлению опухоли молочных желез под воздействием метилхолантрена. Малый помет. Часты случаи возникновения опухолей преджелудка, тонкой кишки и матки, но редки случаи опухоли молочных желез под воздействием 20-метилхолантрена. У животных в возрасте 150 дней большой относительный вес печени (самцы и самки), большой относительный вес сердца (самцы) и большой относительный вес почек. Самцы подвержены возникновению опухолей под воздействием бензпирена, а самки чувствительны к триметилхолантрену. Малый вес тела особей у самок.

4.24

Инбридинг F83+. Штамм дикой окраски, выведенный из материала Швенткера. Жизненный цикл длинный — 589 дней. Самки тучные и тяжелее самцов по достижении зрелости. Часты случаи возникновения доброкачественных аденом коры надпочечников, особенно у самок. Цирроз и амилоидоз печени встречаются у самцов в возрасте 1–2 лет. Чувствительны к тератогенному действию лекарств. Самки обладают стойкостью к возникновению опухолей под действием триметилхолантрена и бензпирена. Большой помет. Малый относительный вес сердца и малый относительный вес почек у самок. Большой вес тела у взрослых особей (самцы и самки), малый помет, частые сердцебиения у взрослых особей.

12.14

Инбридинг F70+. Штамм кремовой окраски, выведенный из материала Уоррена (Warren). Жизненный цикл короткий — 473 дня. Прогрессивный паралич задних лап встречается у самцов в возрасте 6–10 месяцев, при этом страдают только мускулы задних лап; также может возникать дегенерация спинной колонны спинного мозга. Наследуется рецессивно по полу. Проявление у самок не всегда предсказуемое, возможно, в связи с мозаицизмом. Самцы предрасположены к опухолям под воздействием бензпирена и триметилхолантрена. Малый вес тела взрослых особей у самцов, первый помет

в раннем возрасте, низкая частота сердцебиений (самки, самцы). Низкий относительный вес печени у самцов и низкий относительный вес сердца у самок.

14.6

Инбридинг F76. Акромеланический альбиносный штамм, выведенный из материала Швенткера – Лакасса, с рецессивным геном миопатии, введенным от штамма 1.5. Жизненный цикл короткий — 200 дней. Мышечная слабость появляется в возрасте 60–200 дней. Она может проявляться у отъемышей в том, что те занимают положение, как при плавании. У 43% животных в возрасте до 30 дней обнаружены дистрофические поражения в сократительных мышцах щек. Болезнь обычно прогрессирует. Гистологические поражения включают варьируемый диаметр мышечных волокон, сухой некроз и, на более поздних стадиях, жировую инфильтрацию и пролиферацию соединительной ткани. Изменения напоминают дистрофическую миотонию и миопатию Дюшена у человека. Уровень сывороточной креатинфосфатной киназы заметно повышен. Большинство животных умирают от застойной сердечной недостаточности в возрасте приблизительно 150 дней. Кардиомиопатия сопровождается характерными поражениями языка. Для определения наследственной предрасположенности к застойной сердечной недостаточности может применяться ЭКГ. Кардиомиопатия связана с изменениями в сывороточных электролитах и водным балансом, но уровни селена в ткани нормальные. Большой вес тела взрослых особей у самок.

15.16

Инбридинг F72. Штамм кремово-дымчатой окраски, выведенный из материала Уоррена. У животных, попавших под воздействие триметилхолантрена, наблюдается карцинома железистого отдела желудка. Высокочувствительны к индуцированию фибросаркомной опухоли диметилбензантраценом. Чувствительны к индуцированию рака молочных желез метилхолантреном, но обладают низкой чувствительностью к большинству опухолей прочих видов. Самки обладают стойкостью к индуцированию опухолей бензпиреном. Первый помет появляется в раннем возрасте.

45.5

Инбридинг F79. Штамм кремовой окраски, выведенный из материала Ингхама – Тулана – Галфа (Ingham – Toolan – Gulf). Жизненный цикл длинный — 562 дня. У обоих полов в возрасте 1–2 лет часто встречается цирроз и амилоидоз печени. Чувствительны к тератогенному действию талидомида. У 17% особей встречается опухоль надпочечника. Стойкость к индуцированию подкожных опухолей бензпиреном (самцы, самки), а самцы обладают стойкостью к триметилхолантрену. Маленький помет.

54.7

Инбридинг F74. Штамм янтарной окраски, выведенный из материала Уоррена. Жизненный цикл средний — 509 дней. Гетерохромия радужки. У животных обоих полов в возрасте 1–2 лет наблюдаются амилоидоз и цирроз печени. При воздействии 20-метилхолантрена часто встречаются опухоли преджелудка, желудка, матки и молочной железы. Самки чувствительны к индуцированию опухолей бензопиреном. Малый вес печени у самцов и высокий относительный вес почек у самок. Низкий вес тела взрослых особей у самцов, большой помет.

Любая генетически разнородная популяция может быть расчленена на ряд инбредных линий или, что чаще встречается в зарубежной литературе, штаммов. «Чистые линии», как в 1903 г. их определил Иоганнсен, стали использоваться сначала в ботанике и агрономии на основе самоопыляющихся растений. В растительном и животном мире присутствуют генетически различные особи, которые и переходят в гомозиготное состояние в виде разных аллелей и генов.

Столетняя история исследований в этом направлении показала, что мать Природа ставит существенные ограничения возможностям инбридинга, причем тем более жесткие, чем более высокоорганизованны животные. Максимальное разнообразие инбредных конгенно-резистентных, мутантных, нокаутных и иных линий получено на мышах. Им и будут посвящены две следующие главы

Глава 10 КОИЗОГЕННЫЕ И ИНБРЕДНЫЕ ЛИНИИ МЫШЕЙ

Коизогенными называются генетически идентичные линии, т. е. линии, имеющие различия по одному локусу. Истинная коизогенность возможна только в случае единичной мутации в инбредной линии. Такие линии, полученные специальными генетическими методами, названы *конгенными*. Изогенное состояние достигается введением гена одной линии на генетическую основу другой линии. Конгенные линии, которые отличаются друг от друга по локусу тканевой совместимости и, следовательно, взаимно резистентны к трансплантату ткани друг друга, называются *конгенно-резистентными* линиями (КР), пара таких линий — КР-парой.

Число КР-линий мышей составляет несколько сотен и они непрерывно увеличиваются в результате получения рекомбинантных гаплотипов по *H-2,* ценность которых особенно велика в изучении генетической организации сложной системы *H-2.* Вторым источником получения новых КР-линий являются мутантные гаплотипы *H-2,* индуцированные или спонтанные [180, 471]. Известны десятки аллелей локуса *H-2K* и аллеля *H-2D,* входящих в комплекс *H-2.*

Конгенно-резистентные линии

Конгенные линии обозначаются соединением символов двух родительских линий, разделенных точкой. Первая часть содержит полный или сокращен-

ный символ основной линии. Вторая часть может содержать полный или сокращенный символ донорской линии. Например, КР-линия B10.D2 происходит от основной линии C57BL/10-B10 и донорской DBA/2-D2. Иногда вторая часть содержит символ дифференциального локуса и его аллель *B6.C-H-2*^{ba} или *B6-Ly-1.1.* Иногда в обозначении употребляются символы сублиний, если есть основания полагать, что сублинии отличаются: B10.DI/Ph и B10.DI/Y, например, выведены почти одновременно в разных лабораториях. Области использования КР-линий мышей охватывают онкологию, трансплантологию, иммуногенетику, онкогенную вирусологию, фармакологию и токсикологию.

А. СА (М506) (сокращенно М506) **Поддерживается Y**

Инбридинг F34. Генотип *H-2*^{fm1}. Получена в лаборатории генетики (Y) от мыши Fl (A.CA × A/Sn) со спонтанной мутацией в *H-2*^{f} [180]. Мутация в H-2K типа замены антигена *GL*. Трансплантаты кожи от донора с нормальным аллелем (*H-2*^{f}) отторгаются на мутантном на 21-й день, в обратном направлении — значительно медленнее (на 35–65-й день), иногда не отторгаются. Имеются четкие серологические отличия от мышей A.CA и различия в реакциях клеточного иммунитета: смешанная культура лимфоцитов (mixed lymphocyte culture, MLC) — СКЛ, цитотоксический эффект иммунных лимфоцитов (cell mediated lympholysis, CML) — ЦЭЛ, реакция трансплантата против хозяина (graft versus host reaction, GVHR) — РТПХ [372].

B6.C(Hz-l) **Поддерживается Y**

Инбридинг F45. Генотип *H-2*^{bml}. Получена Bailey от мыши F1(C57BL/6 × BALB/c), у которой была обнаружена спонтанная мутация в H-2^{b} путем возвратных скрещиваний с C57BL/6, поступила в Y на NI0F18. Мутация типа GL, локализована в *H-2K* [42]. Реципрокные трансплантаты кожи между мышами с исходным гаплотипом и мутантным отторгаются на 12–14-й день. Различия выявляются в реакциях клеточного иммунитета: СКЛ, ЦЭЛ, РПТХ. Серологические отличия проявляются в том, что *H-2.5* отсутствует на эритроцитах и имеется на лимфоцитах у мутантов, кроме того, у них меньшее количество антигена *H-2K.33* [179, 180, 372].

B6.M505/Y **Поддерживается Y и Sto**

Инбридинг F34. Генотип *H-2*^{bм3}. Происхождение от мышей C57BL/6Sto со спонтанной мутацией в *H-2*, обнаруженной при проверке на гомозиготность племенного ядра В6 в филиале «Столбовая» [179, 189]. Мутация типа GL в локусе H-2K. Трансплантаты нормального аллеля отторгаются на мутантном животном через 19,0 ± 1,25 дня, в обратном направлении — через 13,3 ± 0,04 дня. Мутантные аллели *H-2K*^{bm1} и *H-2K*^{bm3} не идентичны, так как при реципрокном обмене трансплантаты отторгаются в среднем на 14-15-й день [28].

Различия между нормальным аллелем и $H\text{-}2K^{bm3}$ выявляются в реакциях СКЛ, ЦЭЛ, РПТХ [372, 483].

B6.C(Hz-170) **Поддерживается Y**

Инбридинг F? + 8N2F33. Генотип $H\text{-}2^{bm4}$. Происхождение от Bailey на F? в Институте общей генетики РАН, в Y поступил один самец Hz-170, для сохранения мутации был скрещен с B6, в F2 отобраны гомозиготы *bm4/bm4*, размножаются инбредно. Спонтанная мутация в $H\text{-}2K^{b}$ типа GL. Трансплантаты кожи B6 отторгаются на F_1 ($H\text{-}2^{bm1} \times H\text{-}2^{bm4}$). Серологически исходный и мутантный аллели не различаются.

B10.D2(M504)-M504 **Поддерживается Y**

Инбридинг F36. Генотип $H\text{-}2^{dm1}$. Происхождение: получена от мыши B10.D2, у которой обнаружена мутация в $H\text{-}2^{d}$, индуцированная диэтилсульфатом.

Мутация типа GL в локусе *H-2D* [591]. Реципрокные трансплантаты кожи мышей с мутантным и нормальным аллелем отторгаются до 20-го дня. Мутация вызвала серологически определимые изменения антигенов: аллоантигенные специфичности *H-240,49* гаплотипа $H\text{-}2^{d}$ утрачены, появилась специфичность *H-2.50* [163]. Кроме того, она вызывает стимуляцию в СКЛ, ЦЭЛ, РПТХ.

CBA.M523/Y **Поддерживается Y**

Инбридинг F32. Генотип $H\text{-}2^{RM1}$. Происхождение от мыши CBA/LacSto ($H\text{-}2^{R}$) со спонтанной мутацией в H-2, обнаруженной при проверке на гомозиготность племенного ядра CBA в филиале «Столбовая» [67, 71]. Мутация типа GL в области K, кожа CBA отторгается на M523 быстрее (в среднем 23–26 дней), чем в обратном направлении (37–44 дня), у самок быстрее (первая цифра), чем у самцов. Серологических отличий не обнаружено [67, 71], но проявляются различия с нормальным аллелем в СКЛ, ЦЭЛ, РПТХ [372]. Кроме того, наблюдается дефектность функционирования иммунокомпетентных клеток Fl (M523 × CBA) в семисингенном реципиенте, предварительно облученном [212].

Инбредные и трансгенные линии

Инбредные линии мышей обозначают, например, так: A2G/Lac Y, где A2G — название линии, Lac и Y — обозначение лаборатории или института, где линия поддерживается. Ниже приводится описание инбредных линий мышей, разводимых и поддерживаемых в нашем Центре в лаборатории генетики (зав. к.б.н. А.М. Малашенко). Линии сублинии и сублинии обозначены в соответствии с международными правилами. Даны полные сублинейные

символы, отражающие хронологическую последовательность передачи линии. Если линия выведена в НЦБМТ РАМН, она имеет один сублинейный символ — **Y**. Линии, поддерживаемые в центральных лабораториях нашего Центра, также отмечены «Поддерживаются Y»; линии, находящиеся в филиалах, отмечены соответствующими символами: **Sto** – филиал «Столбовая» **And** – филиал «Андреевка», **Bm** – филиал «Белый мох» НЦБМТ РАМН. После названия приведена окраска шерсти мышей данной линии, далее материал расположен в том же порядке что и в «Стандартной номенклатуре инбредных линий мышей» [604]. После инбридинга F (суммарное число поколений братско-сестринского инбридинга за известную историю линии) указывается генотип и окраска шерсти, глаз, гаплотип H-2, гены других полиморфных локусов. Далее дается происхождение линии, ее передач и время поступления в Центр, затем приводится краткая характеристика.

A/HeJ **Поддерживается Sto**

Инбридинг F170. Генотип *a,b,c,H-2*^{a}. Окраска шерсти белая, альбиносы. Получена Стронгом в 1921 г. от скрещивания белых мышей из колонии Cold Spring albino и Bagg albino. В питомник «Столбовая» (Sto) поступила из США в 1961 г. на F113. У 57,9% размножающихся самок в питомнике «Столбовая» возникают опухоли молочных желез. Средний возраст возникновения опухолей — 413,9 дня, продолжительность жизни с опухолями — 463 дня; 12,3% самок имели первичные опухоли легких в возрасте 602 дней; у 12,3% самок лейкозы в возрасте 555,5 дня. Первичные опухоли легких встречаются у половины самцов. На них легко перевивается штамм гепатомы А [321]. Высокая частота амилоидоза, нефритов у старых животных [604] и расщепление нёба у молодых [604]; у 20% самок и 13% самцов — открытые веки. Имеют малый вес тимуса [253, 254], вес надпочечников минимальный в сравнении с CBA/Ca. Общая радиочувствительность самцов $LD_{50:30}$ = 518 рад. [166]. Ткань легких мышей этой линии очень чувствительна к метилхолантрену [604]. Чувствительны к действию аминазина: 62% животных неактивных в тесте открытого поля после введения 4 мг/кг. Двухмесячные самцы чувствительны к заражению метацеркариями Opisthorchis felineus [689].

Устойчивы к Naturallia musculi Muratov. Наиболее чувствительны к заражению вирусом мышиной оспы (экстромелии) [195], гриппом типа А, интенсивно вырабатывают интерферон после введения вируса псевдочумы кур, слабо реагируют на эритроциты барана [234]. Вес тела самок и самцов 27 г в возрасте 168 дней. Продолжительность жизни самок в условиях SPF — 558 дней, самцов — 512 дней [207], в конвенциональных условиях продолжительность жизни самок 464 $\pm$ 9,87 дня. Плодовитость: 97,3% фертильных самок, 4,43 помета на фертильную самку (*n* = 259), 4,19 мышонка в помете при отсадке.

A/WySnKl **Поддерживается Y и Sto**

Инбридинг F85. Генотип *a,b,c, H-2^a*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Выведена Стронгом в 1921 г. В публикациях известна как сублиния A/Sn. Подвержены раку молочных желез, частота и возраст проявления не прослежены. Имеют 25 пресакральных позвонков [604]. Вес семенных пузырьков снижен, что коррелирует с гаплотипом H-2$^{\alpha}$ [246]. Яичник содержит наибольшее число ооцитов (до 15 000). Низкое число Пейеровых бляшек. Низкий относительный вес гипофиза — 1,1 мг сухого веса на 100 г веса тела. Содержат большое количество жира в надпочечниках (у самок больше, чем у самцов). Повышена чувствительность к действию озона (летальная доза 34–36 ppm/ч), которая связана с дефицитом тирозиназы и пероксидазы в легких и коже [235]. Минимальные концентрации хлороформа в воздухе вызывают гибель от поражения почек, особенно у самцов.

Введение эстрогенов вызывает лейкемию через 180 дней, у самцов возникают интерстициональные опухоли семенника. Надпочечники у гонадэктомированных самок (30 дней после операции) не уменьшаются, обработка эстрадиолбензоатом не приводит к их увеличению. Чувствительна к цитогенетическому эффекту тиоТЭФ (доза 5 мг/кг, в/б): 42,8% клеток с хромосомными нарушениями при спонтанном уровне 3,4%. Избегают алкоголя в любых концентрациях. Высокочувствительна к капсульному и бескапсульному штаммам сибирской язвы [2]. Является инбредным партнером нескольких конгенно-резистентных (КР) линий. Потенциальная плодовитость высокая — 7,6 ± 0,3 живых эмбриона на самку (из 11 исследованных линий), эмбриональные потери относительно низкие — 21,2%.

AKR/J **Поддерживается Y**

Инбридинг F137. Генотип *a, c, H-2^k*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Высоколейкозная линия Фэрса с 1928 г. Поступила в филиал НЦБМТ РАМН питомник «Столбовая» в 1961 г. из Jax на F60, затем в Y в 1965 г. на F80. Мыши обоих полов подвержены лимфоидной лейкемии. Около 91% самок сублинии Y погибают от лейкозов в среднем к 300-му дню, в других сублиниях прослежена частота лейкозов у самцов (70–80%); чувствительны к агенту лейкемии [12, 604]. Вирус мышиного лейкоза в высоком титре обнаруживается в беременной матке, яичниках, в плаценте его в 10–30 раз меньше; в тканях эмбрионов не определяется до 18–20-го дня, у сосунков содержится во всех тканях, в наиболее высоком титре в костной ткани, матке и селезенке. В возрасте 5–10 месяцев содержание вируса в тканях практически одинаково, максимальный титр в сыворотке, однако у больных лейкозом вирус содержится в более высоком титре, чем в тканях здоровых сингенных мышей [555]. После рождения в высоком титре продуцируется эндогенный лейкозный вирус типа Гросса с последующим развитием лейкоза тимусного происхождения на 7–9-м месяце жизни. Развитие лейкоза сопровождается увеличением числа копий в ДНК

только опухолевых клеток. Из мышей линии AKR выделено четыре группы эндогенных мышиных лейковирусов, различающихся по биологическим свойствам: 1) экотропный xc^+ MuLV, содержащийся в больших титрах в сыворотке и нормальных тканях мышей в течение всей жизни; 2) экотропный xc^-MuLV, который активно продуцируется лейкозными клетками; 3) ксенотропный вирус, обнаруженный только у взрослых мышей; 4) политропный MuLV, выделенный из тимусов взрослых мышей.

Показано, что xc^-*MuLV* и политропный *MuLV* обладают высокой онкогенной активностью [499]. Встречаются протеинурия и гломерулонефрит у 3-месячных мышей (18% случаев), у 9-месячных (68%) и у 12-месячных (83%) [504]. При инфекции вирусом Раушера (RLV) у мышей развивается эритролейкоз [640, 641]. Устойчивы к тератогенному эффекту 1-этил-1-нитрозомочевины [164, 165] и 7,12-диметилбензантрацена [408]. Относительно устойчивы к канцерогенному действию 3-метилхолантрена [383].

Повышенная чувствительность к озону (летальная доза 34–36 ppm/ч) вследствие дефицита тирозиназы и пероксидазы в легких и коже [235]. Крайне чувствительны к ипрониазиду, гибель наступает от поражения печени. Относительно резистентны к токсическому воздействию препаратов декстрана (самцы больше самок) [129]. Высокочувствительны к повреждающему действию кадмия, который вызывает у них некрозы семенников [630, 631]. Обработка тестостерон-пропионатом приводит к многократному (в 95–125 раз) увеличению концентрации β-глюкоронидазы в почках. Недостаточность комплемента С5 [604], с чем связывают высокий процент спонтанных лейкозов: сыворотка мышей, содержащих С5, оказывала противолейкозное действие на AKR [356].

Резистентны к заражению салмонеллами [174], к протозойной инфекции Besnitia jallisoni, к вирусу вакцины [427], полностью резистентны к вирусу саркомы Молони [640], относительно резистентны к вирусу диареи инфантильных мышей [592]; резистентны к инфекции Leishmania [604]; чувствительны к вирусу лимфоцитарного хориоменингита [374]; наиболее чувствительны к внутрибрюшинному введению коклюшной вакцины [294].

AKR/J вырабатывают большое число антителообразующих клеток на динитрофенол-гемоцианин [82,83]. В антителах AKR/J, как и у мышей DBA/2, CBA/Lac преобладает лизин [662]. Не реагируют на бычий γ-глобулин [501]; не вырабатывают антител к эритроцитам хомяка [498]. Низка концентрация жира в надпочечниках [604]. Резко выражен половой диморфизм по относительному весу гипофиза: у самок — 2,5, у самцов — 1,7 мг (сухого веса на 100 г веса тела); у самцов самый высокий относительный вес подчелюстной железы в этих линиях. Фактор тимической активности сыворотки крови содержится в количестве 1:64. Содержание общего кортикостерона в крови составляет 13,3 ± 1,16 мкг%. Высока концентрация кальция в сыворотке крови, которая близка к отмеченной у линии C3H/He в 4-месячном возрасте [51].

Вес тела половозрелых самок — 21,05 г, самцов — 23,27 г [528]. Плодовитость низкая при конвенциональных и SPF условиях. Она возрастает при содержании на диетах, включающих в свой состав от 19 до 23% белка и около 6% жира [287]. В сублинии Y — 92,0% фертильных самок (*n* = 264), 2,9 помета на фертильную самку, средняя величина помета при отсадке — 5,2 мышонка. Средняя продолжительность жизни самок составляет 279–298 дней, самцов — 326 [604]. В условиях SPF продолжительность жизни не меняется [206, 207]. Низкий уровень эмоциональности: 34% по дефекации в «открытом поле».

BALB/cJLac **Поддерживаются Y и Sto**

Инбридинг F131. Генотип *b, c,* $H\text{-}2^d$. Окраска шерсти белая, альбиносы. Линия происходит от белых мышей, приобретенных Баггом в 1913 г., инбридинг начал Макдауэлл в 1923 г. В Sto на F70 в 1958 г., в Y на F105 в 1971 г. Частота опухолей молочных желез низкая, но высокая при введении фактора молока [604]. В сублинии Sto и Y у размножавшихся самок частота опухолей молочных желез — 1,8% в возрасте 473 дней, у 12,2% самок опухоли легких в возрасте 582 дней, в других сублиниях у обоих полов опухоли легких наблюдаются с частотой 20–30%. У 5% самок в возрасте 572 дней наблюдаются злокачественные ретикулярные новообразования. У старых животных встречаются ангиомы, опухоли яичников и надпочечников, лимфосаркомы; почти у всех самцов к 20 месяцам развивается амилоидоз селезенки [604]. Введение вируса Раушера увеличивает селезенку в 30–40 раз, 100%-ная гибель к 40-му дню после инфицирования при низком содержании интерферона и антител в сыворотке крови [638], 100%-ная передача лейкемического вируса потомству [314]. Кроме того, у инфицированных мышей в возрасте 1–2 месяца развивается гломерулонефрит [504]. Характерны очень большие ретикулоэндотелиальные органы по сравнению с весом тела [604].

В ряду BALB имеют высокий относительный вес подчелюстной железы, у самок самый высокий относительный вес надпочечников. Большая активность фермента фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы в сравнении с мышами CBA/J и DBA/2J, причем не обнаружена связь между активностью и весом надпочечников. Высокая активность щелочной фосфатазы в межальвеолярных перегородках [250]. Фактор химической активности в сыворотке крови равен 1:32.

Высокочувствительны к радиации: $LD_{50:30}$ самцов < 570 рад, $LD_{50:30}$ самок = (585 ± 12) рад. После рентгеновского облучения самок на 10-й день беременности (доза 150 рад) у 5–8% эмбрионов наблюдается полидактилия задних конечностей, что значительно ниже, чем у C57BL/6. Чувствительны к действию озона вследствие дефицита тирозиназы и пероксидазы в легких и коже. Летальная доза составляет 34–36 ppm/ч. Обладают слабой чувствительностью к тератогенному действию временной гипоксии на 9-м дне

беременности, уродства позвоночника возникают у 17% эмбрионов. Уретан индуцирует опухоли у обоих полов, семенники резистентны к повреждающему действию кадмия [630, 631]. Минеральное масло (bayol–553 и primol–355) вызывает образование плазмоклеточных опухолей, при этом ослабляется интенсивность иммунных реакций [389].

Чувствительны к канцерогенному действию метилхолантрена [427], к тератогенному действию 7,12-диметилбензантрацена [408]. Самцы чувствительны к токсическому действию тиоТЭФ, у них обнаружен резко выраженный пороговый эффект при $LD_{50:30}$ = 23,75 мг/кг: смертность от 0 до 100% колеблется в диапазоне доз от 22,5 до 25 мг/кг. Инсулин вызывает слабый тератогенный эффект. Относительно резистентны к тератогенному действию на задние конечности эмбрионов 5-флуороурацила.

Восприимчивы к S. typhimurium [174, 526, 527], к вирусам Раушера, саркомы Молони [230, 465], Фрейнда [137], коксаки [680], желтой лихорадки [152], оспенной вакцины [427], гриппа, диареи инфантильных мышей [592]. Чувствительны к Leishmania [604]. Резистентны к вирусу ЛХМ [374], к вирусу Граффи [137], стафилококковой инфекции. Наиболее резистентны из восьми тестированных линий к Eimeria [604]. Имеют среднюю чувствительность к вирусу кори [604], к заражению B. antracis [2]. Дают высокий иммунный ответ на эритроциты барана [82, 83, 234], салмонелезный и пневмококковый полисахариды [143], на стрептококки группы А [93], на липополисахариды [557]. Характеризуются низкой выработкой интерферона на вирус опухолей молочных желез, вирус болезни Ньюкасла, вирус лейкоза Раушера. Обладают высокой активностью комплемента [604]. В костном мозге дифференцировано 17 типов клеток. Количество клеток зернистого ряда возрастает на 4–5% каждый месяц с одного до четырех [307]. Наблюдаются поражения сердца у самок и артериосклероз у старых животных обоих полов в большинстве сублиний этой линии. Поражение сердца выражается в тромбозе левого предсердия, что приводит к 3–5-кратному его увеличению. Эта патология наблюдается у 60–66% многократно рожавших самок в возрасте от 270 до 800 дней. Она зависит от повторных беременностей, так как почти не встречается у старых виргинных самок и самцов (5%). Патогенез и этиология заболевания неизвестны. Нарушений клапанного аппарата сердца нет.

Однако, несмотря на частые тромбозы, мыши BALB/c страдают от серьезного дефицита необходимых для коагуляции крови факторов, которые содержатся в следующих количествах: 1) фактор IX (компонент плазменного тромбопластина, фактор Christmas) — около 40% от нормы, 2) антигемофилический фактор (фактор ХШ) — около 60% от нормы, 3) Stuart-Prower фактор (фактор X) — около 50% от нормы, 4) протромбин — около 33% от нормы. При этом содержание других компонентов, таких, как Hageman-фактор и фактор V (лабильный фактор, проакцелерин, акселератор-глобулин), всегда в норме. Указанные аномалии протромбинового комплекса об-

наруживаются у беременных самок незадолго перед родами и исчезают через несколько дней после них. Отдача плазменного протромбина может составлять на 20–25% больше нормы в течение 2 дней после родов. Фаза отдачи является умеренной или же совсем не выражена в первой стадии протромбинового времени. Фибрионолитическая активность в крови тромботических мышей настолько низка, что ее невозможно измерить. Явление протромбиновой отдачи у мышей BALB/c чрезвычайно сходно с состоянием инфарктного больного, подвергающегося лечению дикумарином и гепарином. Сравнительное изучение состояния антисвертывающейся системы (АСС) у BALB/c и C57BL/6 показало, что уровень антигемофилического глобулина и скорость свертывания контрольной плазмы у них не отличаются; по реакции на введение тромбина нет основания полагать, что причиной тромбоза левого предсердия является угнетенное состояние АСС.

Вес половозрелых самок в возрасте 2 месяцев составляет 21,2 ± 0,10 г, самцов — 24,3 ± 0,12 г. Мыши этой линии опережают других в скорости морфологического созревания, по времени появления первой пары сосков и открытия влагалища, которое происходит на 37-й день. Им свойственны длительный период размножения, в среднем 4,96 помета на самку; 98,4% фертильных самок, 5,4 мышонка при отсадке.

Самая высокая потенциальная плодовитость: 7,8 ± 0,4 живых эмбриона на самку — при самом высоком уровне эмбриональных потерь 49,4%. Средняя продолжительность жизни самок сублинии StoY — 417 ± 9,78 дня, самок сублинии J — 575 дней, самцов — 539 дней, существенно не отличается от продолжительности жизни в условиях SPF Lac [207]. Сравнительно не агрессивны. Высокоэмоциональны: уровень эмоциональности — 82% по дефекации в «открытом поле». Избегают алкоголя в любых концентрациях. Сильно выражен инстинкт запасания пищи.

BRSUNT/N **Поддерживаются Y**

Инбридинг F151. Генотип *a, b, H-2^J* (определен в Y). Окраска шерсти коричневая. Выведена Стронгом как ветвь BRS, размножаемая без обработки метилхолантреном получена в Национальном институте здравоохранения США. В Y поступила из Orl в 1976 г. на F134. Склонны к ожирению, страдают от желудочных поражений. Заболевание зубов и околозубного пространства (Periodontal disease) у 100% животных [604].

CBA/Ca Lac **Поддерживаются Sto и Y**

Инбридинг F97. Генотип *+, H-2^к*. Окраска шерсти — агути. Одна из сублиний линии CBA, выведенной Стронгом в 1920 г. от скрещивания мышей Bagg albino с DBA. В 1 Sto из Lac на F33 в 1958 г., в Y на F53 в 1965 г. Частота опухолей молочных желез колеблется от 1 до 65% [604]. В сублинии Y 1,7% размножающихся самок имеют опухоли молочных желез, 14,6% самок и 26,4%

самцов — опухоли печени, опухоли легких у 5,1% самок и 6,6% самцов; указанная патология встречается в возрасте старше 700 дней. В сублинии Sto наблюдалось 7% спонтанных опухолей яичников у девственных самок в возрасте старше 20 месяцев, у размножавшихся и лактировавших — 58% опухолей, период развития опухолей сокращался у них до 15 месяцев; развитию опухолей предшествовал период 5–7 месяцев, когда самки не беременели (после 1–6 пометов) [306]. В селезенке на ранних стадиях канцерогенеза, индуцируемого вирусом S47 (C8), накапливаются клеточные антитела к эмбриональным фибробластам, в то время как у C57BL/6, резистентных к онкогенезу, подобных антител не обнаружено [10].

Имеют небольшие скелетные изменения. Третий моляр — самый мелкий, у 18% мышей отсутствует полностью. Нижние моляры видоизменены сильнее верхних [604]. Чувствительны к хроническому облучению всего тела [604]. Имеют самый низкий уровень спонтанных хромосомных нарушений. Чувствительны к минимальным дозам хлороформа: гибнут от поражения почек. Наиболее резистентны к токсическому действию тиоТЭФ среди самцов четырех испытанных линий: $LD_{50:30}$ = 31,73 мг/кг.

Мыши этой линии устойчивы к салмонеллезной инфекции [174, 526, 527], к Leishmania [604]. Они восприимчивы к заражению метацеркариями Opisthorchis felineus [689]. Высокочувствительны к вирусу гриппа типа А, восприимчивы к вирусу лимфоцитарного хориоменингита [374], к Corynebacterium kitscheri [285, 286]. Резистентны к заражению эндогенным вирусом мышиного лейкоза [49]. Устойчивы к бескапсульному и восприимчивы к капсульному штаммам сибирской язвы B. antracis [2]. Дают высокий иммунный ответ на общий антиген энтеробактерий [241]. Имеют самый высокий титр антител против эритроцитов барана [522]. Относительный вес тимуса, селезенки, лимфоузлов (мезентериального) — самый низкий из шести испытанных линий. Имеют наибольший вес надпочечников в сравнении с A/He. Уровень кортикостерона в плазме крови выше, чем у B6 [577]. Фактор тимической активности содержится в том же количестве, что у AKR, B6 (1:64), но выше, чем у BALB/c. В сублинии N обнаружен X-сцепленный иммунный дефект: очень низкий уровень сывороточного IgM и неспособность к ответу на некоторые антигены; кроме того, с возрастом не образуются антинуклеарные антитела.

Вес тела половозрелых самок в возрасте 2 месяцев составляет 19,02 ± 0,07 г, самцов — 23,0 ± 0,10 г; фертильных самок — 98,9%, средняя величина помета при отсадке — 6,0 ± 0,1. Продолжительность жизни самок составляет 705 ± 20,0 дней, самцов — 686 ± 17,6 дня, максимальная продолжительность жизни тех и других — 1031–1071 день. В условиях SPF продолжительность жизни самок 825 дней, самцов — 486 дней [206, 207]. Мыши CBA/CaLacStoY гистосовместимы с CBA/CaH [70].

CBA/J **Поддерживаются Y**

Инбридинг F183. Генотип *+, rd, H-2*^{k}. Окраска шерсти диких мышей, агути. Выведена Стронгом в 1920 г. от скрещивания Bagg albino X DBA. В And из Jax в 1970 г. на F149, в Y 1972 г. на F154. Частота спонтанных опухолей молочных желез у виргинных самок составляет 75%; у 64% самцов гепатомы. Относительный вес гипофиза сравнительно низок: у самцов 1,3 и у самок 1,5 миллиграмм сухого веса на 100 г веса тела. Подчелюстная железа самцов имеет самый низкий относительный вес среди испытанных линий.

По устойчивости к радиации занимают среднее положение: для самцов $LD_{50:30}$ = (656 ± 9) рад, для самок $LD_{50:30}$ = (689 ± 8) рад, однако чувствительны к облучению всего тела [604]. Семенники самцов высокочувствительны к повреждающему действию кадмия [630, 631], восприимчивы к листериям [52]. По числу антителообразующих клеток в селезенке дают высокий ответ на эритроциты барана [108] и низкий на пневмококковый полисахарид Sill. При активном поведении имеют минимальную продукцию тиреоидного гормона. В возрасте 56 дней вес тела самцов 24,32 г, самок — 23,52 г [528]. Яичники содержат (*post partum*) малое количество ооцитов (10 000). Плодовитость в Jax: 90,6% фертильных самок, 3,9 помета на фертильную самку, 5,7 мышонка в помете [244]. Продолжительность жизни виргинных самок — 527 ± 15,4 дня, самцов — 527 ± 17,0 дня. При одинаковом гаплотипе *H-2* негистосовместима с CBA/Ca [71, 72].

CC57BR/Mv **Поддерживаются Y**

Инбридинг F109. Генотип *a, b, H-2*^{b}. Окраска шерсти коричневая. Выведена Н.Н. Медведевым (Mv) в 1943 г. от скрещивания BALB/cN × C57BL/N. В Y получена от Mv в 1976 г. на F93. При введении фактора молока спонтанные опухоли молочных желез развиваются у 60% животных [468]. Частота альвеологенных опухолей легких составляет 26,9%, спонтанные опухоли других локализаций не превышают 1–1,5%; вирус полиомы отсутствует [469]. Перевивается лейкоз Мазуренко. Из спонтанной лимфосаркомы выделен вирус С-типа [439]. Устойчивы к действию радиации в сравнении с тремя другими линиями: $LD_{50:30}$ = 559 рад для самок и 538 рад для самцов. Высокочувствительны к S. typhimurium [174]. Чувствительны к вирусу диареи инфантильных мышей [592]. Наиболее чувствительны из восьми линий к Nuttallia musculi Muratoy. Высокорезистентны к капсульному штамму сибирской язвы B. antracis [2]. Интенсивно вырабатывают интерферон после введения вируса псевдочумы кур. Самый низкий уровень интерферона после введения вируса болезни Ньюкасла [585]. Активность водорастворимой и липидосвязанной каталазы печени равна соответственно 213 и 99 ед. Содержание общего кортикостерона в периферической крови (12,7 ± 1,56) мкг%. Плодовитость — 6,3 мышонка в помете, отход за подсосный период — 5%, главным образом в первых пометах, продолжительность жизни — 17,48 месяца.

CC57W/Mv **Поддерживаются Y**

Инбридинг F 101. Генотип *a, b, c, H-2*^{b}. Окраска шерсти белая, альбиносы. Выведена Н.Н. Медведевым в 1943 г. от скрещивания BALB/cN × C57BL/N. В Y получены от Mv в 1974 г. на F81. После введения фактора молока опухоли возникают у 60% животных [468]. Частота опухоли легких составляет 28,1%, опухоли других локализаций — 1–1,5%, свободны от вируса полиомы [469]. Чувствительны к заражению S. typhimurium [174]. Мало восприимчивы к заражению метациркариями Opisthorchis felineus [689], восприимчивы к нуталиозу. Наиболее чувствительны к заражению Encephalitozoon cuniculi [323]. Чувствительны к заражению чумным микробом. Особенностью является высокое фагоцитарное число 5,01 ± 1,1 в сравнении с другими пятью линиями [478]. Плодовитость — 7,0 мышат в помете, общий отход за подсосный период — 5%. Продолжительность жизни — 15,62 ± 0,4 месяца [468]. Рекомендуются как модель для экспериментального изучения инвазии *E. cuniculi.*

C3H/HeDiSn **Поддерживаются Y**

Инбридинг F91. Генотип +*, H-2*^{k}. Окраска шерсти — агути. Происхождение такое же, как у C3H/He, в Y на F70 в 1965 г. Известна как сублиния C3H/Sn. Как все сублинии C3H, сублиния Sn высокораковая. Спонтанные опухоли легких возникают у 5–10% [384]. Инъекция уретана самцам вызывает аденомы легких и повышает частоты гепатом [179,180]. Вероятно, характеристика C3H/He во многом приложима к этой сублинии. Среди 10 испытанных линий дали минимальный титр антител на иммунизацию живыми и убитыми лептоспирами, максимальный — на анатоксин Cl. oedematiens [522]. Используются в онкологии и иммуногенетике как инбредный партнер многих конгенно-резистентных линий.

C3HA/Mv **Поддерживаются And, Y**

Инбридинг F94. Генотип +*, H-2*^{k}. Окраска шерсти — агути. Выведена от скрещивания самки C3H с самцом A в 1944 г., в Sto на F48 в 1962 г., в Y на F57 в 1965 г. Частота опухолей молочных желез — до 30 % За весь период размножения в Sto и Y частота опухолей резко упала. Частота опухолей легких у самок — 10,7%, у самцов — 19,9%, у 3,3% самок и 26,3% самцов наблюдались гепатомы в возрасте свыше 2 лет. Чувствительны к индукции опухолей печени канцерогенами. Самцы наиболее чувствительны как к летальному действию тотального облучения рентгеновскими лучами ($LD_{50:30}$ = 413 рад), так и к индукции доминантных леталей (доза 400 рад). Однако по частоте хромосомных аберраций в половых клетках (46,3%) они занимают промежуточное положение среди трех испытанных линий (A/HeJ, C3HA/Mv, C57BL/6) [166]. Высокочувствительны к вирусу диареи инфантильных мышей [592], резистентны к нутталиозу. Содержание гликогена в печени —

от 2,2% сырого веса печени в 6-месячном возрасте и до 7,9% в возрасте 11 месяцев [362]. Гемоглобин «гомогенного типа». Фертильных самок — 96,0%, на одну фертильную самку — 3,15 помета; средняя величина помета при отсадке — 6,52, нежизнеспособных пометов — 13,7%. Средняя продолжительность жизни самок — 683 ± 20,5 дня, самцов — 701 ± 21,2 дня.

C57BL/6J **Поддерживаются Sto, Y**

Инбридинг F113. Генотип *a*, *H-2*^{b}. Окраска шерсти черная. Линия C57BL получена Литтлом в 1921 г. В Sto на F62 в 1961 г., в Y на F78 в 1965 г. Опухоли молочных желез отсутствуют, изредка встречаются у размножавшихся самок (около 1%), низкая частота опухолей других локализаций у животных даже в возрасте свыше 18 месяцев [244]. В возрасте 785 дня у 31,1% самок наблюдаются лимфолейкозы, ретикулезы, лимфогрануломатозы [435]. Возникают спонтанные аномалии развития. 12% животных имеют дефекты глаз: от слишком маленьких одного или обоих глаз до полного их отсутствия, разная степень микрофтальмии одного или обоих глаз. 13–15% животных имеют скелетные аномалии: уродства черепа (5%), позвоночного столба (11%), конечностей (1,5%) [604]. Самое низкое число пейеровых бляшек — 7,4 [299]. Яичники старых самок содержат повышенное количество цероидного пигмента. В селезенке иногда наблюдаются черные пятна, гистологически характеризующиеся диффузным расположением пигментированных клеток.

Чувствительны к радиации: для самцов $LD_{50:30}$ = 647 рад, для самок — 670 рад. Наблюдается высокая частота гепатом после облучения [604]. Чувствительны к тератогенному действию временной гипоксии на 9-м дне беременности: уродства грудины возникают у 23% эмбрионов. Относительно резистентны к летальному действию озона. Резистентны к таким концентрациям хлороформа в воздухе, которые смертельны для мышей A, C3H и DBA. Малочувствительны к летальному действию ипрониазида. Резистентны к летальному действию тиоТЭФ ($LD_{50:30}$ = 28,96 мг/кг). Обладают резко выраженной индивидуальной изменчивостью по этому признаку. Чувствительны к цитогенетическому эффекту тиоТЭФ при высоком уровне спонтанных хромосомных нарушений. Чувствительны к индукции β-нафтофлавоном активности монооксидаз (например, арилгидрокарбонгидроксилазы и цитохрома P–450). У 55% потомства от матерей, обработанных на 18-й день беременности 1-этил-1-нитрозомочевиной, возникает лейкоз, у 7% — гепатомы [164, 165].

Чувствительны к канцерогенному действию 3-метилхолантрена [383]. 6-аминоникотинамид вызывает сращение позвонков у 58% эмбрионов и расщепление нёба у 11% (по сравнению с 89 и 76% соответственно в линии A). Этот признак наследуется цитоплазматически. Задние конечности эмбрионов наиболее чувствительны к тератогенному действию 5-флуороурацила. Кортизон индуцирует расщепление нёба у 20% эмбрионов. Чув-

ствительны к тератогенному действию 5-фтор-2-дезоксицитилин, 3-метилхолантрена и 7,12-диметилбензантрацена [408]. Кортизон вызывает эозинопению с максимумом эффекта при 6 мг (по сравнению с 96 мг в других линиях). Подчелюстная железа крайне чувствительна к действию минимальных доз андрогенов и к некоторым дозам эстрогенов (по присутствию амилоида в трубочках). Устойчивы к действию гистамина и серотонина в сравнении с SJL [648]. Чувствительны к действию аминазина: 90% животных становятся неактивными при дозе 4 мг/кг.

Высокочувствительны к заражению салмонеллами [174]. Фенольная вакцина из S. typhimurium вызывает интенсивную выработку опсонизирующих антител, но не защищает от заражения [467]. Чувствительны к стафилококковой инфекции, резистентны к Corynebacterium kutscheri [285, 286]. Резистентны к вирусам эктромелии [195] и диареи новорожденных [592]. При внутрибрюшинном введении в 300 раз более резистентны к вирусу простого герпеса, чем DBA/2 [368]; резистентны к вирусу Молони и Фрейнда, но чувствительны к вирусу Граффи [137]. Обладают слабой чувствительностью к инфекции цуцугамуши, которая протекает у них бессимптомно [359]. Наиболее чувствительны к внутричерепному введению коклюшной вакцины [294] и к возбудителю везикулезного риккетсиоза (D. murinus) [559]. Резистентность к листериозу в 10 раз выше, чем у BALB/c [123]. Высокореактивны на лептоспиры [522] и на общий антиген энтеробактерий в сравнении с DBA/2 [241].

Высокий иммунный ответ на бычий γ-глобулин [501], вырабатывают антитела к полимеру из глутаминовой кислоты, аланина, тирозина. У 45% мышей в 6-месячном возрасте обнаруживаются антитела к вирусу лейкоза AKR [304]. Обладают хорошей продукцией интерферона на вирус лейкоза Раушера [593]. В 3 раза активнее, чем BALB/c, продуцируют сывороточный интерферон на введение вируса опухоли молочной железы мышей. Образуют большее количество циркулирующего интерферона, чем BALB/c, на внутривенное введение вирусов болезни Ньюкасла, гриппа А, Сендай, лейкемии Фрейнда, полиинзиновой и полицитидиловой кислот. В нормальной сыворотке обнаружен фактор тимической активности, способный увеличивать в костном мозге нормальных мышей число розеткообразующих клеток с эритроцитами барана. Имеют самый высокий относительный вес селезенки (4,71 г) из шести испытанных линий, самую низкую активность сывороточного лизоцима (14,4%), высокую переваривающую способность нейтрофилов (36,9 ± 1,9).

Плодовитость увеличивается при содержании на диетах с повышенной концентрацией белка (23% по сравнению с 19%) и жиров (11–12% по сравнению с 6% для других линий) [287]. Дефицит рибофлавина и избыток галактофлавина вызывает увеличение числа аномалий развития по сравнению со спонтанным уровнем: частота расщеплений нёба доходит до 13%, возрастает частота брахигнахии и дефектов глазной мускулатуры. Средний вес мышей этой линии в возрасте 168 дней составляет 28 г [528]. Вагинальное

открытие происходит позже, чем у BALB/c, на 9 дней. Фертильных самок — 99,4%, 4,32 помета на фертильную самку (n = 437), 6,22 мышонка в помете при отсадке. Средняя продолжительность жизни самок в Y — 656 дней, в Jax у самок — 692 дня, самцов — 676 дней. Продолжительность жизни у самцов — до 878 дней при содержании с 6-недельного возраста в контролируемых условиях, у самок — до 794 дня. Предельный возраст самцов — 1132 дня [404].

C57BL/10ScSn **Поддерживаются Y**

Инбридинг F122. Генотип *a, H-2*^{b}. Окраска шерсти черная. Сублиния C57BL (см. C57BL/6) поступила к Скотту на F26 в 1940 г. В Y на F97 в 1971 г. Частота опухолей молочных желез очень низка, не имеют фактора молока [604]. Уретан вызывает повышение частоты лейкозов, аденом легких, гемангиом печени и аденом Гардериевых желез. Чувствительны к канцерогенному действию 3-метилхолантрена [383]. Встречаются глазные дефекты и гидроцефалия. Вес семенных пузырьков сравнительно высок, коррелирует с гаплотипом *H-2*^{b} [246]. Резистентны к летальному действию озона [235]. На вирус Раушера отвечают высоким уровнем антител [638]. Резистентны к заражению Corynebacterium kutscheri [285, 286]. Дают максимальный титр антител на иммунизацию живыми и убитыми лептоспирами. Чувствительны к S. typhimurium и инфекции Leishmania [604]. Высокочувствительны к гистоплазмозу [508]. Активность печеночной каталазы снижена на 50% по сравнению с другими линиями и сублиниями C57BL/6He и C57BL/6An. Средний вес самок в возрасте 168 дней — 36 г, самцов — 37 г [528]. Самки и самцы агрессивны, особенно в условиях конкуренции; агрессивное поведение самцов элиминируется через 25 дней после кастрации. Склонность к запасанию пищи выражена слабо. Являются инбредным партнером многих КР линий.

C57BL/KsJ – db **Поддерживаются в Y**

Инбридинг Fn+58. Генотип: *a, db*. Получены из Jax в 1978 г. Мыши несут рецессивный ген диабета *db* (4-я хромосома), детерминируют развитие диабета, сходного с *diabetis mellitus* человека. Характеризуются всем спектром аномалий этой болезни от ожирения до полного бесплодия у гомозигот по гену *db*. Дефицита инсулина нет. Используется как биомодель аналогичной патологии человека: диабета типа II и по отдельным феноменам этиопатогенезу, диабета типа I.

C57BL/6-W^{Y} /+ **Поддерживаются в Y**

Линия, несущая на генотипе C57BL/6. Мутантный ген (Dominant spotling) — *Y* (*W*^{Y}), выявленный в 1962 г. в Sto. Современное обозначение — *Kit*$^{w\text{-}y}$. Ген детерминирует формирование рецепторов тирозинкиназы клеточной мемб-

раны и определяет передачу межклеточной информации и взаимодействие клеток в эмбриогенезе. Одна из наиболее актуальных биомоделей биологии и генетики развития, ранее использовалась как модель наследственной анемии; гомолог человеческой «пегости» — белой пряди на голове.

C57L/JY **Поддерживаются Sto, Y**

Инбридинг F137. Генотип *a, b, ln, H-2^b^*. Окраска шерсти свинцовая. Был обнаружен Мэрреем среди коричневых мышей C57BR. В Sto на F80 в 1961 г., с 1965 г. поддерживается в Y.

Наблюдаются гипофизарные опухоли у старых животных. Ретикулоклеточные опухоли типа B встречаются у 54,5% размножавшихся животных [604]. В сублинии (Y) опухоли разных локализаций встречаются с частотой 1,5–4,4%, и только разного типа ретикулоклеточные опухоли наблюдаются у 16,4% самок и 7,9% самцов в возрасте старше 600 дней. Кисты яичников у 10% самок. Более резистентны к хлороформу в воздухе в сравнении с линиями C3H, A, DBA. При внутрибрюшинном введении 1-этил-1-нитрозомочевины самкам на 18-й день беременности 42% потомства поражается лейкозом, возникают аденомы легких, гепатомы [164, 165]; кроме того, обнаружен тератогенный эффект: наибольшая эмбриональная смертность (57,3%) на 14-й день беременности и наибольшая частота уродства мозга и глаз (69,6%) по сравнению с другими четырьмя линиями [164]. Их семенники высокочувствительны к повреждающему действию кадмия [630, 631]. Чувствительны к заражению P. berghei, гиперчувствительны к инфекции Echinococcus multilocularis [604]. Вес тела у обоих полов в возрасте 140 дней — 25 г [528]. Плодовитость следующая: 63% фертильных самок, на фертильную самку приходится 2,87 помета, средняя величина помета при отсадке — 5,24. Продолжительность жизни в условиях SPF у самок — 604 дня, у самцов — 473 дня [604]. В Y средняя продолжительность жизни у самок — 537 дней, у самцов — 459 дней. Высокая подвижность в «открытом поле» (9,9) и высокая активность в колесе (10,6) коррелирует с низким уровнем декарбоксилазы глутаминовой кислоты в мозге. Используются в онкологических исследованиях.

C58/JY **Поддерживаются Y**

Инбридинг F173. Генотип *a, H-2^k^*. Окраска шерсти черная. Выведена Макдауэллом. Из Jax поступила в Sto на F114 в 1961 г., в Y поддерживается с 1965 г. Высокая частота лейкозов у мышей обоих полов: в Y — у 80,4% самок в возрасте 317 ± 11,7 дней, в Jax — у 88% самок и 73% самцов. Аплазия почек наблюдается у 10% животных [604]. В яичниках часто встречаются полиовулярные фолликулы, содержащие от 2 до 5 яйцеклеток. Резистентны к летальному действию озона [235], к заражению P. berghei [604]. Высокочувствительны к заражению S. typhimurium [174], чувствительны к дерматофитам. В Y — 76,9% фертильных самок, 2,65 помета на фертильную самку,

средняя величина помета при рождении — 4,22 мышонка и при отсадке — 3,58. Эмбриональные потери высокие. Соотношение полов: 0,552 самцов. Продолжительность жизни самок — 351 день, самцов — 373 дня.

DBA/1J Lac **Поддерживаются Y**

Инбридинг F85. Генотип *a, b, d, H-2*^{q}. Окраска шерсти осветленная коричневая. Старейшая инбредная линия, заложена Литтлом в 1909 г. Из Англии в Sto на F28 в 1958 г., с 1965 г. поддерживается в Y. Резистентны к большинству опухолей мышей DBA/2. Штамм P1534 растет у 50% животных DBA/1, а S91 — у обеих линий [138]. Опухоли молочных желез развиваются у 75% размножавшихся мышей в возрасте старше года и у некоторых виргинных самок старше 18 месяцев [604]. Частота опухолей молочных желез у размножавшихся самок в Y в возрасте 460 дней — 61,5%, погибали самки в возрасте 503 дня. Относительно устойчивы к канцерогенному действию 3-метилхолантрена: канцерогенный индекс < 31, у чувствительных > 64 [383].

Устойчивы к инфекции P. berghei, но чувствительны к заражению S. typhimurium C5, чувствительны к инфекции Leishmania, Coxiella burnetii [604]. Высокочувствительны (после A/He) к мышиной оспе. На инфицирование вирусом Раушера 8-недельные самцы отвечают 10-кратным увеличением селезенки на 20-й день после введения вируса, далее наблюдается полная или частичная ремиссия заболевания, выживает 90% животных. Резистентность к этому вирусу, видимо, связана с высоким уровнем антител и высоким титром сывороточного интерферона [638]. Дают низкий иммунный ответ на синтетические полипептиды в сравнении с мышами SJL/J [490]. Не вырабатывают антитела к линейному полимеру из глутаминовой кислоты, аланина и тирозина [232]. Имеют самый низкий как абсолютный, так и относительный вес мозга среди испытанных линий. Половой диморфизм по этому признаку у данной линии отсутствует. Число пейеровых бляшек в их лимфатической системе — самое высокое из семи испытанных линий [299].

Чувствительны к содержанию минимальных доз хлороформа в воздухе, гибель происходит от поражения почек. Семенники высокочувствительны к повреждающему действию кадмия [630, 631]. Введение кортизона беременным самкам вызывает расщепление нёба у значительного числа эмбрионов: от 20 до 100% в зависимости от дозы и времени обработки. Желтые тела в яичниках сохраняются на протяжении многих эструсных циклов; с возрастом они гиалинизируются и обызвествляются. Тестостерон-пропионат индуцирует незначительное (в 4–5 раз) увеличение β-глюкуронидазы в почках. Яичники неполовозрелых самок чувствительны к гонадотропину человеческого хориона.

Страдают фенилкетонурией, так как несут аллель гена, снижающего активность фенилаланингидроксилазы на 50% . Чувствительны к тератогенно-

му действию временной гипоксии на 9-м дне беременности: аномалии грудины у 74% эмбрионов. Скелетные аномалии развиваются у эмбрионов при кормлении беременных самок рибофлавиндефицитными и галактофлавинсодержащими диетами: дефицит рибофлавина вызывает расщепление нёба у 41% эмбрионов. В Y 92,5% фертильных самок, 3,9 помета на фертильную самку, 4,85 мышонка в помете при отсадке. Продолжительность жизни самок — 514 дней. Низкая подвижность в «открытом поле» и крайне низкая активность в колесе коррелирует с относительно высоким уровнем декарбоксилазы глутаминовой кислоты в мозге [266].

DBA/2J **Поддерживаются Sto, Y**

Инбридинг F124. Генотип *a, b, d, H-2*^{d}. Окраска шерсти осветленная коричневая. Происхождение — DBA/1, из Jax в Sto в 1964 г. на F80, в Y — с 1965 г. К большинству опухолей мышей DBA/1 резистентны. Опухоли молочных желез редко встречаются у старых размножавшихся самок, снижение частоты произошло с 1955 г. Около 1/3 самок имеют лейкемии [244]. Перевивается нейробластома С-1300, ее рост сопровождается появлением в крови фермента дофамингидроксилазы, специфического для симпатической нервной системы [255]. Устойчивы к канцерогенному действию 3-метилхолантрена [383]. Внутрибрюшинное введение 1-этилнитрозомочевины на 16-й день беременности вызывает лейкозы у 65% потомков, гепатомы — у 22% [164, 165]. У самцов самый низкий абсолютный вес мозга среди испытанных линий. Очень низкий относительный вес гипофиза (у самок 1,3, у самцов 1,2) и у самцов — подчелюстной железы. Абсолютный вес яичников самый высокий (25–65 мг). Желтые тела сохраняются на протяжении многих эструсных циклов, с возрастом они гианилизируются и обызвествляются. Абсолютный вес семенников значительно больше, чем у самцов B10/J, имеет тенденцию с возрастом увеличиваться (с 188 мг в 8-недельном возрасте до 236 мг в 16-недельном), с возрастом усиливается сперматогенез, так же, как у B6 в отличие от B10/J [569].

Крайне чувствительны к содержанию паров хлороформа в воздухе и продуктов окисления этилена [604]. Резистентны к индукции β-нафтофлавоном активности некоторых монооксигеназ (например, арилгидрокарбонгидроксилазы) [497]. Обладают слабой чувствительностью к токсическому действию ипрониазида. Чувствительны к инсулину. После введения аминазина 67% животных становятся неактивными в тесте «открытого поля». Чувствительны к тератогенному действию винкристина. Относительно устойчивы к тератогенному эффекту 1-этил-1-нитрозомочевины [164]. Семенники высокочувствительны к повреждающему действию кадмия [630, 631]. Тестостеронпропионат дает относительно слабое увеличение концентрации β-глюкуронидазы в почках (в 4–5 раз). Интактные мыши резистентны к индукции лейкемии метилхолантреном, тогда как кастрированные чувствительны к ней.

Яичники неполовозрелых самок чувствительны к гонадотропину человеческого хориона.

Относительно резистентны к P. berghei [604], резистентны к подкожному заражению S. typhimurium (инфицирующая доза — более 10^5 микробных тел) [526, 527]. Наиболее восприимчивы к возбудителю везикулезного риккетсиоза D. murinus испытанных линий [559], к заражению метацеркариями Opistorcbis ielinous из шести испытанных линий [689]. Чувствительны к вирусу гепатита мышей. В 300 раз чувствительнее, чем B6, к вирусу простого герпеса [368]. Не способны продуцировать антитела к эндотоксину кишечной палочки [82, 83]. Вырабатывают меньшее количество антител в сравнении с B6 на общий антиген энтеробактерий [241]. В отличие от DBA/1 вырабатывают антитела к линейному полимеру из глутаминовой кислоты, аланина и тирозина [232].

Дают низкий иммунный ответ на ДНК [216], на вакцину из стрептококков группы А [93], против пневмококкового полисахарида III типа, минимальный иммунный ответ на первичную иммунизацию α-анатоксином Cl. oedematiens [522]. По образованию антител высокореактивны к иммунизации полинозин-полицитидиновой кислотой, липополисахаридом E. coli или одним из видов Salmonella по сравнению с C3H/He [659]. Отмечена низкая концентрация липидов в надпочечниках, наблюдается кальцинация сердца [604].

Страдают фенилкетонурией, так как несут аллель гена, снижающего активность фенилаланингидроксила на 85%. При активном поведении наблюдается минимальная продукция гормона щитовидной железы в сравнении с наиболее спокойными мышами Swiss и ST/J. Самцы гибнут при дефиците в рационе витамина K. Плодовитость снижается при содержании жиров в диете свыше 6% и белков свыше 19%. Вес тела самок и самцов в возрасте 168 дней достигает 28 г [528]. Плодовитость в Y: 86,3% фертильных самок, 4,0 помета на фертильную самку, средняя величина помета — 4,4 мышонка. Средняя продолжительность жизни виргинных самок — 714 дней, самцов — 707 дней.

DBA/2JY **Поддерживаются в Y**

Инбридинг F178. Генотип: *a, b, d, H-2*^{d}. Окраска шерсти осветленная коричневая. Получены Jax в Y в 1964 г. У трети самок развивается лейкемия, устойчивы к канцерогенному действию 3-метилхолантрена. Самцы крайне чувствительны к парам хлороформа в воздухе. Аудиогенные припадки можно вызвать у 100% мышей в возрасте 35 дней. Средняя продолжительность жизни самок — 714 ± 21,4 дня, самцов — 707 ± 22,4 дня. Используется как партнер для производства популярных гибридов C57BL/6 × DBA/F1 и BALB/c × DBA/2F1 (для получения моноклональных антител генотипа BALB/c). Линия используется в онкологических исследованиях.

129/J.Y **Поддерживаются Y**

Инбридинг F127. Генотип: A^w, *c, c* ^{ch}, *p/cp, H-2*^{b}. Окраска шерсти палевая. Получены Y из Jax в 1964 г. Мыши этой линии наиболее резистентны к радиации. У самцов иногда развиваются тератомы (1—5%), характеризующиеся хаотичной дифференциацией клеток, происходящих от одной стволовой клетки. Эта особенность сделала линию 129 наиболее используемой при производстве многочисленных трансгенных линий мышей.

HRS/J **Поддерживаются Y**

Инбридинг F120. Генотип *hr, b, c, d, H-2*^{k} поддерживаются скрещиванием гетерозиготных (+/hr) самок с гомозиготными (hr/hr) самцами. Окраска шерсти белая, голые. Мутантный сток мышей *hr* (hairless — безволосые) получен Грином в 1959 г., от него в Jax в 1964 г., оттуда в Y в 1974 г. Несут рецессивную аутосомную мутацию hairless, которая первоначально в 1926 г. была обнаружена у диких домовых мышей в Лондоне. У гомозигот нормальный шерстный покров развивается до 10-дневного возраста. В это время они начинают терять волосы, которые выпадают из фолликулов. Через некоторое время нарастает очень мало тонких пуховых волос, которые вскоре тоже выпадают. Такой рост волос повторяется с интервалом около месяца, однако животные выглядят совершенно безволосыми. Ногти исключительно длинные и искривленные. Гистологически выявляется гиперкератинизация многослойного эпителия и верхней части волосяных канальцев, начиная с 14 дней. Формирование волосяных луковиц аномально, и нижняя часть фолликула обычно отделяется от верхней. В изолированной нижней части развивается киста. Иногда кисты возникают в изолированных сальных железах. Гомозиготы обладают нормальной плодовитостью, но большинство самок плохо выкармливают мышат. Некоторые *+/hr* самки теряют большую часть шерсти в возрасте старше 4 месяцев [604]. 45% гомозигот hr/hr к 8—10 месяцам имеют лейкемию, к 18 месяцам частота лейкемии достигает 72%. У гетерозигот *+/hr* частота лейкемии составляет к 10 месяцам только 1% и 20% — к 18 месяцам [604]. У мышей генотипа *hr/hr* наблюдается атрофия коры тимуса. Так как безволосые мыши более чувствительны к развитию лейкемии, чем нормальные, полагают, что ген *hr* обусловливает дефект иммунной системы [278].

I/StY **Поддерживаются Y**

Инбридинг F118. Генотип *a, b, d, p, s, H-2*^{j}. Окраска шерсти пятнистая. Вывел Стронг в 1926 г. из группы беспородных мышей. В Y поступили от Клейна из Чехии в 1968 г. на F88. Устойчивы к химической индукции опухолей [604]. Высокочувствительны к возбудителю туберкулеза [38]. Комплемент не обнаруживается. Наблюдается сцепленная с полом недостаточность фосфорилазной киназы [604]. Активность альдегидоксидазы в печени в 2 раза ниже, чем у мышей линии C57BL/6J [59].

NZB/Bl Orl **Поддерживаются Y**

Инбридинг F92. Генотип *a, B,* $+^{rd}$, $H\text{-}2^{d}$. Окраска шерсти черная. Выведены Бельшевским (Bl) в 1948 г. из смешанной колонии университета г. Отаго, которая была перевезена в Новую Зеландию из Англии в 1930 г. Происходит от черной пары, отделившейся от NZO на F3.

Страдают аутоиммунной гемолитической анемией, которая обусловлена взаимодействием нескольких генов. Наблюдаются антинуклеарные антитела и волчанкоподобные нефриты. Характерны ретикулоцитоз, экстрамедуллярный эритропоэз, нередко развиваются желтуха и спленомегалия. Комплемент не определяется [604]. Резистентны к инфекции Leishmania [604]. Высокореактивны к иммунизации ДНК, дают самый низкий титр интерферона в сыворотке крови, индуцированного вирусом лейкоза Раушера [593]. Средний вес тела в возрасте 112 дней у самок — 31 г, у самцов — 34 г [528]. Средняя продолжительность жизни животных обоих полов составляет 270–280 дней [604], в условиях SPF продолжительность жизни самок — 441 день, самцов — 459 дней [207, 208]. Используются для изучения аутоиммунных процессов, преимущественно в гибридной комбинации с NZW.

NZW/LacY **Поддерживаются Y**

Инбридинг F50.Генотип *b, c*. Окраска шерсти белая. Выведены в 1948 г. от пары белых мышей из основного стока в Новой Зеландия. В Y получены в 1972 г. из Англии (Lac) на F25. Мыши этой линии обладают высокой способностью к выработке аутоантител. У них не развивается толерантность к бычьему гамма-глобулину [94]. Гибридные самцы, несущие гаплоидный набор генов линии NZW, высокочувствительны к токсическому действию препаратов декстрана [129]. У гибридов F (NZB × NZW) наблюдаются волчанкоподобные нефриты с положительной реакцией на LE-пробу [604]. Для них характерно спонтанное возникновение антител к нуклеиновым кислотам: против РНК — в 2,5–5,5 месяца и против ДНК — в 5,5–7,5 месяца [610]. Чувствительны к инфекции Leishmania [604]. Средний вес тела самок в возрасте 112 дней — 30 г, самцов — 35 г [528]. Средний размер помета в Lac — 5,0 мышонка, средний интервал между пометами — 27,1 дня [207]. Продолжительность жизни обоих полов и конвенциональных условиях — 630 дней [604], в условиях SPF самки живут 733 ± 42,8 дня, самцы — 702±34,0 дня [208]. Гибриды (NZB × NZW)F_1 служат для получения культур тканей.

SWR/JY **Поддерживаются Y**

Инбридинг F128. Генотип *A, B, c,* $H\text{-}2^{q}$. Окраска шерсти белая, альбиносы. Выведена от неинбредных мышей Swiss, в Y с 1974 г. на F109. Частота опухолей молочных желез в различных сублиниях очень низка: от долей процента до 30%. Лейкемия наблюдается у 10% самок. Первичные опухоли легких возникают у 36–50% мышей [604]. Чувствительны к действию 3-ме-

тилхолантрена (канцерогенный индекс > 64) [383]. После внутрибрюшинного введения матерям 1-этил-1-нитрозомочевины на 18-й день беременности лейкоз возникает у 85% потомства, на 16-й день — у 74% [165]. На гистологических срезах обнаруживаются аномалии в строении сетчатки глаз. В возрасте 6–10 месяцев у 314 самок развиваются полидипсия и полиурия. Артериосклероз встречается у животных обоих полов [604]. Средняя резистентность к радиации LD_{50} = 629 рад. Отмечена высокая смертность у самцов, подвергнутых действию продуктов окисления окиси этилена [604]. Продукция тиреоидного гормона в сравнении с более активными по поведению мышами DBA/2 максимальна. Замещающая андрогенная терапия лишь частично восстанавливает агрессивное поведение у кастрированных самцов. Доза тестостерон-пропионата в 600 мг/день вызывает у них депрессию. Резистентны к гистоплазмозу [508], к заражению метацеркариями Opisthorchis felineus [689]. Имеют самое высокое давление крови из 19 тестированных линий [604]. Значение pH артериальной крови сравнительно высоко (среди 16 испытанных линий): в левом желудочке pH 7,43), pH венозной крови — 7,28. Потребление кислорода в спокойном состоянии самое высокое из семи испытанных линий. Самцы SWR чувствительны к дефициту витамина K [604]. В Y средняя продолжительность жизни виргинных самок, страдающих полидипсией и полиурией, составляет 496 дней, нормальных — 655 дней, самцов — 616 дней. В Y происходит 45,0% фертильных скрещиваний, на одну фертильную самку приходится 3,5 помета, средняя величина помета — 6,8 мышат. Имеют самый низкий уровень общих эмбриональных потерь (в Y), потенциальная плодовитость по первому помету — 6,9.

TPS/Y **Поддерживаются Y**

Инбридинг F27. Генотип *aa*. Выведена в Y при селекции на повышенную чувствительность к цитогенетическому эффекту тиоТЭФ, проведенной среди мышей-октагибридов, полученных скрещиванием восьми неродственных линий: A/Sn, BALB/c, CBA/Ca, C57BL/6, DBA/2, GLF, I/St и 101/H. Наиболее чувствительны к цитогенетическому эффекту тиоТЭФ среди 20 испытанных линий и гибридов, к цитогенетическому эффекту митомицина C, фторофура и циклофосфамида среди четырех испытанных линий. Предназначены для испытания на мутагенность химических соединений.

YT/Y **Поддерживаются Y**

Инбридинг F35. Генотип *a, b,* c^{ch}*, p, d, go, ln*. Окраска шерсти грязно-белая, шерсть длинная. Выведена как линия-анализатор в отделении генетики Y, ее родоначальники — мыши, гомозиготные по семи рецессивным генам, были отобраны среди потомков от скрещивания линий C57L/Y, DBA/2Y, C57BL/Lac-go и 129/JY в 1967 г. Линия имеет маркеры-гены окраски шерсти (2, 4, 7, 9, 19). Предназначена для использования в экспериментах,

направленных на определение частоты индуцированных проникающими излучениями или химическими агентами генных мутаций в маркерных локусах. Схема организации экспериментов следующая: самцов дикого типа подвергают воздействию изучаемого мутагенного фактора и затем скрещивают с самками линии-анализатора. Если в какой-либо гамете самца произойдет мутация в одном из семи маркерных локусов, то в первом поколении среди потомков, имеющих дикий тип окраски, появится особь, гомозиготная по мутировавшему гену. Используются для изучения мутагенного эффекта диэтилсульфата [448] и генетической структуры популяции неинбредных мышей [392, 393, 394].

101/H **Поддерживаются Y**

Инбридинг F30. Генотип A^W, $H\text{-}2^R$. Окраска шерсти — агути белобрюхие. Выведена Данном (Dunn) в Радиобиологическом центре Англии в 1948 г. Поступили в Y в 1969 г. без данных об инбредном возрасте.

Имеют низкую частоту опухолей молочных желез. Высокочувствительны к индукции кожных и легочных опухолей [604]. Наиболее чувствительны к токсическому действию тиоТЭФ из четырех испытанных линий: $LD_{50:30}$ = 21,53 мг/кг. Линяя чувствительна к патогенетическому эффекту тиоТЭФ, при этом имеет самый высокий уровень спонтанных хромосомных нарушений из девяти исследованных линий. Мыши этой линии имеют самый высокий относительный вес мезентериального лимфоузла (0,98 ± 0,06) из шести испытанных линий. Количество эритроцитов высокое: (10,1 ± 0,40) млн/мм^3, лейкоцитов (13,8 ± 0,90) тыс./мм^3 . Размножаются медленно, обладают средней фертильностью [604]. Потенциальная плодовитость составляет 4,7 ± 0,31 живых эмбриона на самку. Уровень общих эмбриональных потерь высокий. Используются главным образом в опытах по радиационному и химическому мутагенезу, реже — в иммунологических и морфологических исследованиях. Иногда служат для приготовления культур тканей, для изучения проблем тканевой совместимости и защиты от радиации (гибриды 101 × C3H). Предложена как чувствительная линия для тестирования химических мутагенов.

129/RrJ **Поддерживаются Y**

Инбридинг F79. Генотип A^w, c^{ch}, p/cp, $H\text{-}2^b$. Окраска шерсти белая или палевая. Получена Данном как производные линии 101 с генотипом $c^{ch}p/c^{ch}p$ и cp/cp. Из J поступила в Sto в 1964 г. на F39, с 1965 г. поддерживается в Y скрещиванием компаундов c^{ch}/c или гомозигот c/c с c^{ch}/c^{ch}. Опухоли различных локализаций относительно редки — они встречаются у 20% виргинных самок и 12% самцов. Нечувствительны к фактору молока. У самцов этой линии иногда развиваются тератомы семенников; их частота колеблется в разных сублиниях от 1 до 5%. Наблюдается высокая частота отложения камней в мочевом пузыре [604]. Старые самки часто страдают закупоркой вен в

надпочечниках и в матке [604]. Мыши 129 наиболее резистентны к радиации из 10 испытанных линий: для самцов $LD_{50:30}$ = 734 ± 10 рад; для самок $LD_{50:30}$ = = 774 ± 13 рад. Высокочувствительны к действию эстрогенов в любом возрасте [604]. Относительно резистентны к обработке тестостерон-пропионатом: концентрация β-глюкуронидазы в почках увеличивается лишь в 4–5 раз. Резистентны к инфекции Leishmania и наиболее чувствительны к вирусу Sendai из 19 испытанных линий [604]. Давление крови относительно низкое (систолитическое 88,7 ± 2,0 мм рт. ст.); ритм работы сердца — самый медленный из семи испытанных линий (частота пульса 630 ± 8 уд./мин), pH венозной крови — 7,32, артериальной — 7,37. Продолжительность жизни колеблется от 648 дней у виргинных самок и 679 дней у самцов до 819 дней для каждого пола. В Y — 66,3% фертильных самок, на фертильную самку — 2,67 помета, нежизнеспособных пометов — 23,2%; средняя величина помета — 5,19 мышонка. Используются в эмбриологических исследованиях, онкологии, фармакологии.

Глава 11 МУТАНТНЫЕ ЛИНИИ И СТОКИ

Термин *сток* означает закрытые колонии (популяции) лабораторных животных, размножаемых любым способом, *кроме инбридинга*. Стоки обозначают как Lac:A2G, где Lac — источник животного, A2G — название, символ стока. В филиале «Андреевка» размещаются две популяции неинбредных (аутбредных) мышей: Kv:SHK и Kv:ICR (Kv — Крюково) — символ, источник развития, SHK — символ популяции. В дальнейшем аббревиатура Kv заменена на **And**.

Постоянно протекающий в природе *мутационный процесс* является источником новых мутантных форм животных с наследственными изменениями признаков организма, любых систем и органов. *Мутанты* широко применяются в медико-биологических исследованиях, являясь естественными моделями наследственных заболеваний человека. Моделирование наследственных болезней стало возможным в связи с выявлением целого ряда генов, обусловливающих нарушение развития, аналогичное врожденным болезням человека. Среди наиболее ценных мутантов следует упомянуть ген мышечной дистрофии *dy* (dystrophia muscularis); гены *rd* (retinal degeneration), *mi* (microphtalmia), *dw* (dwarf, карликовость), *db* (diabetes), гены *W* и *SI,* обусловливающие дефекты кроветворения и т. д. В Y большинство мутантных стоков поддерживается инбридингом. Если мутация обнаружена в инбредной линии и поддерживается инбридингом, такая му-

тантная линия является коизогенной (см. гл. 10). Если же мутантный ген вводят в стандартный генотип инбредной линии серией возвратных скрещиваний, то в этом случае линия является конгенной.

BALB/cY- wal **Поддерживаются Y**

Инбридинг F29. Генотип *c, wal*. Окраска шерсти белая, альбиносы. Мутанты найдены среди мышей производственного стада линии BALB/c в Sto в 1969 г. Wal — waved alopecia (волнистые, лысеющие), рецессивный ген не локализован. Гомозиготы в 14-дневном возрасте покрыты короткой волнистой шерстью. В возрасте одного месяца, после первой смены шерстного покрова, вырастают более короткие и редкие, чем в норме, волосы. Курчавость и последующее облысение развиваются от межлопаточной к задней части спины, постепенно охватывая бока и живот.

У взрослых мутантов шерстный покров состоит из тонких извитых волос, остевые волосы отсутствуют. Облысение более выражено у самок, чем у самцов [602].

C57BL-go^{Y} **Поддерживаются Y**

Инбридинг F32. Генотип *a, go^{Y}*. Окраска шерсти черная. Спонтанная рецессивная мутация (go) — ангорская, вызывающая рост длинной шерсти, обнаружена в 1961 г. у мышей C57BL/Lac в Sto.

Гомозиготы *go/go* обладают нормальной жизнеспособностью и плодовитостью. Шерстный покров мутантов состоит из длинных волос, которые к моменту отъема в 2 раза длиннее, чем у нормальных мышей. Вибриссы также очень длинные. Мутантный ген длинношерстности был идентифицирован как повторение мутации *go* по результатам двух тестов. При проверке на сцепление с геном W^{Y} (XVII группа сцепления, 5-я хромосома) среди 153 потомков F2 найдены 93 короткошерстные пестрые мыши, 45 черных длинношерстных, 6 пестрых ангорских и 9 черных короткошерстных мышей. Это расщепление свидетельствует о том, что ген длинношерстности находится в 5-й хромосоме; частота кроссинговера с геном W^{y} составляет (9,8 ± 2,5) %. Тест на аллелизм с мышами C57BL/6-go, полученными из Джексоновской лаборатории, подтвердил идентичность генов go^{Y} и go^{J}.

C57BL/KsJ-db+/+m **Поддерживаются Y**

Инбридинг Fn+8. Генотип *a, db+/+m*. Окраска шерсти черная. Поступили в Y из JAX в 1978 г. Мыши несут рецессивный ген diabetes-*db* (8-я группа сцепления, 4-я хромосома). Ген *db* в гомозиготном состоянии вызывает диабет, сходный с diabetes mellitus, сопровождающийся аномальным ожирением, дегрануляцией бета-клеток в островках поджелудочной железы, гипергликемией, полиурией, глюкозурией. Содержание сахара в крови очень высокое, уровень утилизации глюкозы снижен. Дефицита инсулина нет. Диабетики

обоих полов бесплодны. Ген *m*-misty — рецессивный, осветляющий окраску — маркер оппозитной хромосомы, не несущей гена *db*.

C57BL/6Y-Hi/+ **Поддерживаются Y**

Инбридинг N17F8. Генотип *aa, +Hi*. *Hare tail* («заячий хвост») – полудоминантный аутосомный ген, обнаруженный в питомнике «Столбовая» в 1967 г. среди гибридов Fl(CBA/Ca × B6). Ген *Hi* обладает полной пенетрантностью. Гетерозиготы имеют сильно укороченный, толстый хвост, загнутый вверх или в сторону. У гомозигот отмечена пониженная жизнеспособность. Гомозиготные самки не размножаются, хотя плодовитость самцов близка к нормальной. Фенотипически гомозиготы характеризуются более сильной выраженностью мутантных признаков: тело резко укорочено, позвоночник часто искривлен на границе грудной и поясничной области, хвост сильно укорочен. Ген не локализован.

C57BL/6Y-a^tUn^S **Поддерживаются Y**

Инбридинг N23F18. Генотип a^1+/a^tUn^s (2-я хромосома). Окраска шерсти черная, желтобрюхие. Доминантный ген, вызывающий в гетерозиготном состоянии сильное укорочение и искривление хвоста, найден в 1964 г. у мышей линии CC57BR в питомнике «Столбовая». Сцеплен с геном *a* (не-агути, 2-я хромосома), частота кроссинговера между геном, вызывающим укорочение хвоста, и геном *a* составляет (4,97 ± 1,11) %. Идентифицирован как доминантный аллель гена *un* по результатам скрещивания с мышами B10.UW. Ген Un^S летален и в гомозиготном состоянии. Введен в генотип линии C57BL/6 серией возвратных скрещиваний.

Рецессивный мутантный ген α^1 (black-and-tan) — «загорелые агути» — найден у мышей C57BL/6 в 1968 г. в питомнике «Столбовая». Мутантный ген идентифицирован как повтор мутации *a’* по результатам теста на аллелизм с мышами, имеющими стандартный ген a^t; поддерживается на одной хромосоме с *Un*. Ген a^t рецессивен по отношению к гену *A,* но доминантен по отношению к гену *a*. Вызывает отсутствие феомеланина в шерстном покрове на спине и боках, но усиливает желтую пигментацию на животе. Используются гены Un^s и a^t как генетические маркеры, ген Un^s — для моделирования наследственных аномалий человека. Современное обозначение гена – $Kit^{w\text{-}y}$.

C57BL/6-W^Y /+ **Поддерживаются Y**

Инбридинг F47. Генотип *a*, $+/W^Y$. Окраска шерсти черная с белыми пятнами. Доминантная мутация пятнистости была найдена у мышей C57BL/6 в 1962 г. в Sto. С 1965 г. поддерживается в Y.

Мутантный ген W^Y — Dominant spotting Yurlovo — идентифицирован как аллель серии *W* по фенотипическому проявлению: ослабленный уровень пигментации, белая проточина на голове, белое пятно на животе, иногда на

спине и боках. Кроме того, это было подтверждено в тесте на аллелизм с аллелем W^x, при скрещивании мышей $+/W^x$ и $+/W^Y$ получили 150 потомков, среди которых было 54+, 44 $+/W^x$, 44 $+/W^Y$ и восемь черноглазых белых компаундов W^x/W^Y. Компаунды W^x/W^Y обладали пониженной жизнеспособностью, из найденных восьми мышей только три дожили до 2-месячного возраста. Доминантные мутации в этом локусе очень часты, гомозиготы и компаунды с мутантными аллелями серии *W* часто страдают опухолями яичников, снижением числа половых клеток, что обусловлено снижением продукции полового гормона и увеличением количества гонадотропного гормона гипофиза.

Мутантные аллели варьируют от давно найденного гена *W* (гомозиготы по которому погибают в течение недели после рождения от анемии) до W^x, гомозиготы по которому жизнеспособны, хотя и бесплодны. Гетерозиготы по гену *W* имеют белую пятнистость, размеры которой варьируют в зависимости от генотипа. У них нормальная кровь, и они полностью жизнеспособны и плодовиты. Гомозиготы страдают макроцитарной анемией и погибают в течение недели после рождения.

Найденный в Sto ген W^Y близок по эффекту к гену *W,* но гомозиготы W^Y/W^Y всегда погибают сразу после рождения. Поэтому среди потомков от скрещивания гетерозигот наблюдается расщепление на два класса: «пестрых» и черных (нормальных) в отношении 2:1 (среди 1354 мышат было 927 пятнистых и 427 черных). Живых анемичных гомозигот можно обнаружить при вскрытии беременных самок на 17–19-й день беременности. Количество красных кровяных клеток у гетерозигот $+W^Y$ не отличается от нормы. Количество лейкоцитов выше, чем у B6. Некоторые аллели серии *W* используются для изучения наследственной анемии человека. Современное обозначение гена — $Kit^{w\text{-}y}$.

C57BL/6J-W^x/+ **Поддерживаются Y**

Инбридинг F5N100. Генотип *a,* $W^v/+$. Окраска шерсти черная с белыми пятнами. Поступила в Y из Jax в 1978 г. на N97. Мыши несут мутантный ген жизнеспособной доминантной пятнистости (Dominant spotting viable) W^v (XVII группа сцепления, 5-я хромосома). Гетерозиготны по этому аллелю имеют белую пятнистость, несколько ослабленную пигментацию окрашенных участков тела и легкую форму макроцитарной анемии. Гомозиготы W^v/W^v страдают анемией в тяжелой форме, но часть из них выживает и вырастает черноглазыми белыми мышами.

C57BL/6-a^t Un^s **Поддерживаются Y**

Генотип $a^t+/a^t\ Un^s$ (2-я хромосома). Окраска шерсти черная, желтобрюхие (эффект гена a^t). Доминантный ген, вызывающий в гетерозиготном состоянии дефект осевого скелета, найден в 1964 г. у мышей линии CC57BR

в питомнике «Столбовая». Летален в гомозиготном состоянии; анализ мутации показал, что эта спонтанная делеция (302 килобаз) гена *Pax1*. Модельная система для работы в области эмбриологии, биологии и генетики развития.

C57BL/10 - fz^{Y} **Поддерживаются Y**

Инбридинг F5. Генотип *a/a* fz^{Y}/fz^{Y}. Мутант найден сотрудниками НЦМБ РАМН (Y) в линии C57BL/10Sn в 1980 г. Окраска шерсти черная. Гомозиготы имеют тонкие извитые волосы. Остевые волосы отсутствуют. Плодовитость и жизнеспособность нормальны. Ген идентифицирован как повторная мутация fuzzy по результатам скрещивания с мышами, гомозиготами по гену *fz,* полученными из Jax через Igg (XIII группа сцепления, 1-я хромосома).

C57BL/10-hr^{rhY} **Поддерживаются Y**

Линия несет мутантный ген *Rhino* в 14-й хромосоме, выявленный в Y в 1980 г. Мутантный ген (точковая мутация) детерминирует отсутствие местного покрова у гомозигот, бесплодие самок и раннюю потерю плодовитости у самцов, раннее старение и развитие аутоиммунных процессов в организме. Используется в экспериментальной биологии, дерматологии, иммунологии, фармакологии.

C57BL/HeJ-pe **Поддерживаются Y**

Импортирована из Jax в 1988 г. Ген вызывает отсутствие феомеланина, осветление окраски и дефект лизосом, ген нестабилен. Окраска шерсти – осветленные агути (серые). Используется в экспериментальной генетике, фармакологии.

C57BL/6Y-smK(smoky) **Поддерживаются Y**

Рецессивная мутация найдена в линии C57BL/6JY в Y. Ген не локализован, вызывает осветление окраски и бесплодие самок (атрезия влагалища и дефект оогенеза). По мнению А.М.Малашенко,это самые красивые мыши, которые трепетно ждут исследователя. Окраска шерсти светло-серая. Могут быть использованы для моделирования паталогии женской репродуктивной сферы.

C57BL/6Y-+/Hi, go **Поддерживаются Y**

Мутация Hare tail (Hi) — полудоминантный ген, найден в 1967 г., гетерозиготы имеют дефект осевого скелета (укороченный хвост). У гомозигот снижена жизнеспособность, самки Hi/Hi бесплодны. Ген не локализован. Рецессивная мутация в 5-й хромосоме у andora (go) обнаружена в 1961 г. в питомнике «Столбовая». Ген в гомозиготном состоянии влияет на шерстный покров (длинная шерсть). Модельная система для биологии и генетики развития млекопитающих, для фармакологии и токсикологии.

B10.CW/Y **Поддерживаются Y**

Инбридинг F30. Генотип *aa, cc*. Выведена в Y путем введения гена альбинизма *c* (из линии CC57W) на генетическую основу линии C57BL/10. Используются при производстве сложных гибридов-альбиносов, а также для получения тетрагибридов CBWA [390—394] в интересах токсикологии и эмбриологии.

(C3Hx101)F1-nu^Y **Поддерживаются Y**

Мутация nude^Y (11-я хромосома) возникла в линии мышей 101/H в Y в 1986 г. Рецессивная точковая мутация обуславливает у гомозигот дефект иммунной системы — отсутствие тимуса и Т-лимфоцитов, а также отсутствие шерстного покрова. Используется в онкологии, иммунологии, дерматологии, фармакологии, токсикологии.

B10.T/Sn **Поддерживаются Y**

Инбридинг N51. Генотип a, T/+, H-2^b. Получена от Sn в Igg, в Y на N28. Мыши этой линии имеют доминантный маркер 17-й хромосомы — локус Brachyury (T), расположенный ближе к центромере, слева от *H-2.* Линия конгенная, размножается путем возвратных скрещиваний с C57BL/10SnY. Окраска шерсти — черная.

Ген N утрачен – Splotch **Поддерживаются Y**

Инбридинг F45. Генотип *a, Sp/+*. Поступила в Y в 1973 г. из J на F28. Гетерозиготна по гену *Sp.* N-naked («голый»), полудоминантный ген (15*,* VI). *Sp*-splotch («грязное» пятно), полудоминантный ген (I, XIII). Спонтанная мутация в линии C57BL/6. Гетерозиготы имеют белую пятнистость на животе и иногда на лапах и хвосте. Гомозиготы погибают на 13-й день эмбрионального развития от уродств, включающих расщепление позвоночника в люмбосакральной области, разрастание нервной ткани, редукцию или отсутствие спинальных ганглиев и их производных, нарушение строения хвоста. Применяется в эмбриологии.

RaSd **Поддерживаются Y**

Генотип *++/RaSd* (2-я хромосома), *Ra* и *Sd* локализованы на оппозитных концах 2-й хромосомы. Окраска темная, короткохвостые агути. Разводятся на генотипе гибридов FI (CBA/Ca × B6), N8. Сток мышей с мутантными генами *Ra* и *Sd* получен в Y из Института генетики животных в Эдинбурге (Шотландия) в 1973 г. *Ra, ragged* («оборванный»). Полудоминантная спонтанная мутация, у гетерозигот первый шерстный покров растет несколько медленнее, чем у нормальных мышей. Шерстный покров почти не содержит пуховых волос. Окраска агути модифицируется таким образом, что мыши *+/Ra* выглядят необычно темными. Гетерозиготы обладают нормальной жизнеспо-

собностью и плодовитостью. Гомозиготы почти полностью голые. Они часто страдают отеками при рождении и могут погибнуть до отъема. Некоторые выживают и могут размножаться. Изучение развития мышей *+/Ra* показало, что рост поздно дифференцирующихся волосяных фолликулов, которые продуцируют пуховые волосы, резко заторможен или остановлен. У мышей *Ra/Ra* почти все волосяные фолликулы не развиваются.

Небольшое число гетерозигот имеет белую млечную жидкость в брюшной полости, начиная с момента рождения до 1–2-недельного возраста. Sd, Danforth's short tail (короткий хвост Данфорта), спонтанная мутация, обнаруженная Данфортом. Многие гетерозиготы и все гомозиготы погибают вскоре после рождения от нарушений в урогенитальной системе. Выживающие гетерозиготы могут иметь хорошую жизнеспособность и плодовитость. Гетерозиготы имеют искривленный короткий хвост с уменьшенным количеством хвостовых позвонков. Хвост может отсутствовать полностью, 3-й и 4-й крестцовые позвонки спаяны. Одна или обе почки могут быть редуцированы или отсутствовать. Гомозиготы имеют сходные, но более серьезные нарушения. Кроме того, у них заращенный анус и иногда отсутствуют прямая кишка, уретра и мочевой пузырь. Дефекты развития могут быть прослежены, начиная с аномального строения нотохорда.

ru c^e f **Поддерживаются Y**

Инбридинг F20. Генотип *c^e, f, ru*. Окраска сильно осветленная, красные глаза. Неинбредные мыши, гомозиготные по трем генам — *c^e, f, ru,* были получены Y из Института генетики животных (Эдинбург, Шотландия). *c^e*-extreme dilution («сильное осветление») — один из рецессивных аллелей серии albino в локусе *с*, 7-я хромосома. Гомозиготы *c^e / c^e* имеют черные глаза с сильно осветленным шерстным покровом, что обусловлено снижением активности тирозиназы. *f* — flexed tail («изогнутый хвост»), 13-я хромосома, рецессивный ген, гомозиготы рождаются с транзиторной анемией, обусловленной нарушением гематопоэтической функции печени эмбриона. Большинство гомозигот имеет также изогнутый хвост и белое пятно на животе, но эти признаки не постоянны. Анемия развивается с 12-го дня жизни эмбриона, когда печень начинает продуцировать клетки крови. Ru—ruby-eye («рубиновые глаза»), 19-я хромосома. Рецессивный ген, гомозиготы при рождении имеют не пигментированные глаза, которые позднее становятся темно-рубиновыми. Черный пигмент в шерсти ослаблен до темно-серого, желтый пигмент слегка осветлен. Сильно уменьшено количество меланоцитов в ретине, коже ушей и век.

REX **Поддерживаются Y**

Производное мышей ICR. Мыши несут рецессивную мутацию, вызывающую дефект шерстного покрова и вторичное отсутствие глаз. Сток ждет исследователей.

T/t^6 **Поддерживаются Y**

Генотип T/t^6 (17-я хромосома). Сток, имеющий сбалансированную летальную систему, получен Y на основе скрещивания мышей *B10.T* и T/t^6, импортированных в 1967 г. из Англии. T, Brachyury — полудоминантный ген, найден в 1927 г. Добровольской-Завадской. Длина хвоста у гетерозигот варьирует от почти нормальной до полного его отсутствия. Некоторые (или почти все) хвостовые позвонки могут отсутствовать. Изучение развития мышей показало, что нотохорд в хвостовой части аномален. У мышей генотипа *T/T* нотохорд никогда не развивается, нервная трубка и сомиты неправильны, и задняя часть тела сильно редуцирована. Гомозиготы погибают на 10-й день беременности. Ген *T* входит в сложную систему локуса *T*, в котором известно большое количество как доминантных, так и рецессивных мутаций. Мыши *T/+* имеют короткий хвост, $t^n/+$ — нормальный хвост, T/t^n — бесхвостые, *T/T* и t^n/t^n — гомозиготы легальны. Гомозиготы по некоторым аллелям *t*-серии жизнеспособны и имеют нормальные хвосты.

Компаунды по некоторым аллелям (t^n/t^m) обычно имеют нормальный хвост и жизнеспособны, но самцы — стерильны. Аллели *t* сильно уменьшают частоту кроссинговера в этом районе IX группы сцепления. Ген t^6 также летален в гомозиготном состоянии и соответственно модифицирует эффект гена *T* у компаундов T/t^6. Для локуса *T* характерны аномально высокая частота внутригенной рекомбинации и появление новых аллелей (1:500), в связи с чем были предприняты попытки использовать этот локус для оценки генетического эффекта облучения. Ген *T* используют в качестве диагностического маркера для поиска рецессивных аллелей *t*-серии в популяциях диких и лабораторных мышей. Расщепление в потомстве самок генотипа $t^n/+$ или T/t^n соответствует менделевскому, но среди потомков от самцов этих генотипов наблюдается избыток особей от гамет, несущих *t*-аллель.

Tabby **Поддерживаются Y**

Генотип *Ta, X*-хромосома. Окраска шерсти агути, «муаровые». Поддерживаются на генотипе F1 (CBA/Ca × B6), N24. Аллель Ta^J возникла спонтанно в линии 129/Sv в Джексоновской лаборатории. Получены из Джексоновской лаборатории в 1972 г. на N11. Впервые полудоминантная мутация Tabby произошла в линии, селектируемой Фолконером на большой размер тела. Гемизиготные самцы и гомозиготные самки имеют одинаковый фенотип. Они характеризуются отсутствием остевых волос по всему телу, безволосыми участками около ушей, голым хвостом, слегка искривленным на конце, уменьшенным размером век, респираторными расстройствами и изменением окраски агути. Гетерозиготные самки легко узнаются, если они имеют окраску агути, в этом случае они имеют поперечные темные полосы. Волосы, образующие темные полосы, не имеют желтого кольца. Самцы Tabby размножаются удовлетворительно, но гомозиготные самки часто стерильны. Гетерозиготные

самки характеризуются нормальной плодовитостью. Ген *Ta* используется для исследования частот потерь и нерасхождения половых хромосом.

Tufted **Поддерживаются Y**

Инбридинг F38. Генотип *tf* (17-я хромосома). Сток, гомозиготный по tufted («клочковатый»), получен в Y в 1967 г. из Англии (H). Ген *tf,* вероятно, возник спонтанно. Гомозиготы характеризуются периодической потерей волос и новым ростом шерсти, начинающимся с головы и распространяющимся вдоль тела. Жизнеспособность и пенетрантность хорошие.

WR/Y **Поддерживаются Y**

Инбридинг F80. Генотип: – *a*, $+/W^Y$. Мыши имеют сильно осветленную окраску, черноглазые. Выведена в Y от скрещивания линий C57BL/6 – W^Y и 129/J. Среди гетерозигот до 20% особей имеют черные пятна-участки с нормально пигментированной шерстью; на данном генотипе ген W^Y ($Kit\text{-}^{wY}$) нестабилен. Высокочувствительны к мутагенам прямого действия, в том числе к цитогенетическому эффекту тиоТЭФ, но плохо активируют промутагены, такие, как митомицин С и циклофосфамид. Используются в экспериментальной генетике, эмбриологии и для тестирования химических мутагенов.

YT/2 **Поддерживаются Y**

Инбридинг F14. Генотип *a, b,* bp^H, *d se, go, p, s*. Окраска шерсти светло-коричневая, пятнистая. Линия-анализатор выведена в Y для изучения генетической структуры популяций неинбредных лабораторных мышей и мутагенеза. Мыши гомозиготны по восьми маркерным рецессивным генам. Линия получена на основе гибридизации линий. Данная линия более удобна для изучения структуры популяций по генам окраски, чем линии YT и PT, так как она не имеет гена c^{ch} (chinchilla), который в комбинации с геном альбинизма *c* затрудняет у компаундов c/c^{ch} идентификацию фенотипа.

101.A/Y **Поддерживаются Y**

Инбридинг N7F20. Генотип *c*. Линия выведена в Y путем введения гена альбинизма *c* из линии A/Sn на генетическую основу линии 101/H. Цитогенетический анализ показал, что мыши линии 101.A и линии 101/H обладают повышенной чувствительностью к мутагенному эффекту тиофосфамида. Линия предназначена для использования при производстве сложных гибридов, создания искусственных популяций и проведения исследований в фармакологии и токсикологии.

129/ReDg-Fu/+ **Поддерживаются Y**

Инбридинг N31F34. Генотип A^w, $c^{ch}p$, *Fu*/+ . Окраска шерсти желтая. Из J в Y в 1969 г. на N31F9. *Fu* — fused («сплавленный»), полудоминантный ген

(17-я хромосома), вызывающий искривление и укорочение хвоста. Мутация произошла в Bassey Institute до 1931 г. Проявление этого мутантного гена очень вариабельно. Как гомозиготы, так и гетерозиготы могут иметь укороченный и искривленный хвост, хотя отдельные особи могут быть нормальными. Гомозиготы обычно поражены сильнее, чем гетерозиготы. Проявление гена не зависит от остального генотипа, но у потомков матерей генотипа *Fu/+* или *Fu/Fu* признак проявляется слабее, чем у потомков матерей +/+. Иногда гомозиготы и гетерозиготы страдают глухотой и обладают аномальным поведением, сходным с поведением мутантов *circling* (один из маркеров 17-й хромосомы). Применяются в эмбриологии.

CC57BR-bp^{H} **Поддерживаются Y**

Инбридинг N1. Мутанты получены Y из Джексоновской лаборатории, ген вводится в генотип линии CC57BR. *bp^{H}* — brachypodism — H («коротконогие»), 2-я хромосома. Этот рецессивный ген обусловливает поражение скелета — ахондроплазию. Применяются в эмбриологии.

Глава 12 ГИБРИДЫ F1, ТЕТРАГИБРИДЫ И РАНДОМБРЕДНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Многие исследователи отдают предпочтение гибридам F1: они широко используются в биологических и медицинских исследованиях, особенно в экспериментах по фармакологии, токсикологии, физиологии, трансплантологии, иммунологии, микробиологии, вирусологии, онкологии, радиологии, а гибриды КР-линий — в иммуногенетике.

Гибриды первого поколения (F1) являются потомками от скрещивания двух высокоинбредных линий. Поэтому они генетически однородны, также как животные инбредной линии, но гетерозиготны по тем парам генов, по которым отличаются друг от друга две скрещиваемые линии. Огромным преимуществом гибридов F1 являются их фенотипическая однородность, большая устойчивость к изменениям внешней среды, чем у животных инбредной линии, обладающих пониженной плодовитостью и жизнеспособностью.

Гибриды F1 наследуют генетические особенности родительских линий, но не сохраняют всех их характеристик. Ответ их организма на экспериментальные воздействия однотипный и стабильный. Воспроизводимость результатов исследований, выполненных на гибридах F1, такая же высокая, как и у инбредных животных. Гибриды F1 не могут быть использованы для размножения, поскольку у потомков F2 будет генетическое расщепление.

Тетрагибриды — потомки животных, полученных от скрещивания гибридов F1 инбредных линий.

Исходным материалом тетрагибридов являются четыре инбредные линии, которые постоянно поддерживаются для получения тетрагибридов. Тетрагибриды представляют гетерогенную популяцию, которая по генетической структуре близка к рандомбредным или неинбредным животным. Тетрагибриды сложнее получить, чем рандомбредных мышей, так как для этого нужно поддерживать четыре инбредные линии, однако они обладают некоторыми преимуществами.

Определенная гибридная комбинация может быть получена в любой лаборатории, располагающей исходными линиями, в то время как любая выборка из рандомбредной колонии не может быть воспроизведена повторно и, будучи использована для племенных целей, даст начало колонии, отличающейся от исходной. Причем, чем меньше взята выборка, тем больше различий можно ожидать. Другим преимуществом тетрагибридов является возможность большего генетического контроля и достижения большей генетической гетерогенности животных в эксперименте, так как для их получения могут быть использованы линии с известной специфичностью в отношении изучаемого признака. В НЦБМТ РАМН предложена комбинация тетрагибридов мышей из четырех инбредных линий, имеющих белую окраску шерсти [448, 449], а также светлогорская линия мини-свиней.

В качестве иллюстрации приведем пример получения в НЦБМТ РАМН, в лаборатории биомоделирования, а территориально в пос. «Светлые горы» Красногорского района Московской области, новой линии гибридов мини-свиней. Процесс селекции светлогорской мини-свиньи проводился следующим путем. Гибриды от скрещивания ладрасской породы и вьетнамской вислобрюхой свиньи, полученные академиком РАСХН В.Н. Тихоновым в Новосибирске, были завезены в НЦБМТ РАМН. В дальнейшем в НЦБМТ РАМН для снижения инбридинга и повышения уровня изменчивости проводилось скрещивание дигибридов LV с геттингенской мини-свиньей /g/, завезенной из ФРГ еще раньше. Полученные тригибриды LVg использовались как для разведения в себе, так и для скрещивания с другой тригибридной формой, несущей в себе гены дикого кабана LVS. Результатом такого воспроизводительного скрещивания явилось создание сложного тетрагибрида с генами LVgS. Естественно, такое сочетание генов давало возможность предположить, что при разведении их в себе выявится большой диапазон изменчивости, что необходимо для проведения отбора.

Но, видимо, у первых двух поколений такого скрещивания были упущены или не проявились желательные генотипы, а последующая селекция не внесла существенных изменений в весовые характеристики тетрагибридов, хотя они являются вполне пригодными для лабораторных работ, так как вес годовалых самок составил около 29 кг, а самцов — 22 кг. Вес тригибридов LVS, несущих гены кабана, также широко варьировал, и в процессе селекции на протяжении трех поколений существенно уменьшить этот показатель у

мини-свиней этой сублинии не удалось. Однако интересно отметить, что относительный прирост в подростковый период у мини-свиней этой группы в 5-м поколении значительно меньше, чем этот показатель во 2-м поколении (133% F_2 и 75% в F_5). У мини-свиней LVS пятого поколения этот показатель значительно ниже и в период полового созревания (4-6 месяцев). Однако после полового созревания они продолжают расти так же, как и во втором поколении. Это, по-видимому, обусловлено влиянием генов кабана. Именно на второй год жизни кабаны матереют и набирают соответствующий вес. Сравнение относительного прироста у мини-свиней (сублинии LVg) в 1-м и 3-м поколении также показало существенное снижение этого показателя в подростковый период. Самцы мини-свиньи LVg в 12 месячном возрасте весят 24 кг, а самки — 36 кг, что является вполне приемлемым показателем карликовости этих свиней.

У всех исследованных сублиний имеет место половой диморфизм по размерам и массе тела. Интересно, что на ранних этапах постнатального роста он, как правило, не проявляется, а если проявляется, то не резко. Если в природных популяциях свиней самцы намного крупнее самок, что необходимо для борьбы за существование и продолжение рода (имеются в виду известные схватки между самцами в период гона), то в нашей популяции, когда отбор направлен на уменьшение размеров веса, самцы во всех сублиниях намного меньше самок. Это подтверждает известную гипотезу о том, что генотип самцов более податлив на различные воздействия внешней среды, а, следовательно, в генотипах самцов имеется тот запас генетических вариантов, который у них быстрее проявляется, чем у самок, при изменении давления отбора, будь этот отбор естественным или искусственным.

Воспроизводительная способность всех сублиний светлогорских мини-свиней остается, несмотря на небольшие размеры популяции, очень хорошей. В разных сублиниях плодовитость по 1–2-му опоросу колеблется от 6,3 до 8,3 поросенка на опорос, а по 3–4-му опоросу от 7,3 до 11 поросят на опорос. Процент мертворожденных не коррелирует с процентом инбридинга. Светлогорские мини-свиньи остаются вполне плодовитыми и рождают нормальное потомство даже при 25% инбридинга, в то время как мини-свиньи зарубежных линий не выдерживают и 10% инбридинга. Это указывает на то, что в предыдущие годы прошел жесткий отбор на жизнеспособность светлогорской мини-свиньи.

Селекция на уменьшение размеров светлогорских мини-свиней привела к незначительному уменьшению срока супоросности и в среднем у них супоросность равна 113 дням, тогда как у обычных свиней этот срок равен 113-116 дням. Это важно учитывать при гнотобиологических и других экспериментах, когда нужно точно знать срок супоросности.

Сведения о стандартных гематологических, иммунобиохимических показателях здоровых лабораторных животных являются необходимым усло-

вием планирования биомедицинских экспериментов. Исследование клеточных элементов крови у светлогорских мини-свиней в возрастном аспекте выявило большую схожесть этих показателей с таковыми у человека. Число лейкоцитов и лимфоцитов возрастает от однонедельного до половозрелого возраста животного и затем несколько снижается в период матерости.

Количество розеткообразующих Т-лимфоцитов увеличивается с возрастом и достигает наивысшего значения у 8-месячных животных. Эти данные хорошо согласуются с результатами исследования динамики этого показателя у человека. Исследование Т-лимфоцитов в возрасте от 7 до 60 месяцев показало, что их число немного повышается до периода матерости (22—24 месяца), а затем сохраняется практически без изменений.

Число естественных киллеров, изученных на перевиваемом штамме опухолевых клеток К562 в возрасте 8—60 месяцев, как показали исследования, остается на всех сроках практически одним и тем же. Это указывает на важную роль естественных киллеров в иммунологическом статусе организма. Определен уровень общего белка плазмы (8,0 г %) и уровень свободного холестерина (90—188 мг %) у взрослых (24—48 месяцев) животных.

Рандомбредные животные — неинбредные, нелинейные животные закрытых колоний, размножаемые по определенной, в большинстве случаев ротационной системе, обеспечивающей рандомизацию скрещиваний. Каждая такая колония характеризуется определенными частотами генов и генотипов, животные гетерозиготны по неопределенному числу генов, и поэтому сама колония и каждая выборка из нее генетически гетерогенны. Животные этой категории фенотипически менее однородны, чем гибриды. Методы генетического контроля стали применяться также при разведении и производстве нелинейных, генетически гетерогенных животных, которые все еще составляют большую часть экспериментальных биологических объектов.

Необходимым условием сохранения биологических особенностей нелинейных животных и воспроизводимости результатов экспериментов является поддержание гетерозиготности при сохранении стабильности генетической структуры колонии. Выполнение этого условия обеспечивается при разведении животных по определенной системе, обеспечивающей рандомизацию скрещиваний.

Стандартными могут считаться животные из закрытых колоний, размножаемые по ротационной системе на протяжении не менее четырех поколений при потере гетерозиготности менее 1% на поколение. Для обозначения стандартных неинбредных колоний (их предложено обозначать термином «сток») используют буквенные символы сток Lac: LACA обозначают колонию мышей LACA, поддерживаемую в английском центре лабораторных животных (Lac). В гл. 11 дана их более подробная характеристика.

В медико-биологических исследованиях значительно чаще используются менее крупные животные: кролики, морские свинки, крысы, мыши, хомячки. В их ряду имеются гибриды F1, рандомбредные и аутбредные штаммы. Но в последние годы растет интерес к использованию мини-свиней, собак, овец и других крупных животных

В НЦБМТ РАМН популяции неинбредных лабораторных животных отвечают всем международным требованиям. В частности, это колонии морских свинок, крыс и мышей в филиале «Андреевка» (And) и кроликов в филиале «Белый мох» (Bm), крыс, сирийских хомячков и мышей в филиале «Столбовая» (STO). Развивается производство мини-свиней в And и овец и баранов — в Bm. Приведем лишь некоторые примеры.

SHK(And) **Поддерживается And**

Генотип*: cc,* полиморфны по локусам *A, B, D* и *H-2,* концентрация рецессивных аллелей генов окраски следующая: *a* — 0,34, *b* — 0,50, *d* — 0,01. Мыши Swiss-H, родоначальники колонии, были завезены из Чехии в 1955 г. в Центральный питомник «Крюково» (ныне филиал «Андреевка»). Существуют с 1961 г. как закрытая колония, а в 1972 г. введена ротационная система разведения. Средняя величина популяции — 10 000 размножающихся самок и самцов, потеря гетерозиготности на поколение — менее 0,01% [392, 393, 394]. Мыши негистосовместимы (выявлены следующие гаплотипы основного комплекса тканевой совместимости *H-2: a, b, d, i, h, q,* s, *x* — неидентифицированные гаплотипы, составляющие более 40%) [390]; самки подвержены раку молочных желез (частота заболевания выше 50%), в связи с чем средняя продолжительность жизни составляет только 12,5 ± 0,5 месяца. Самки SHK более склонны к возрастному ожирению, чем линейные C3HA [103]. Высокоплодовиты: среднее число желтых тел на самку первой беременности 8,7 ± 0,12, живых эмбрионов 7,3 ± 0,16; максимальные показатели в пятую беременность — 12 желтых тел и 9,99 живого эмбриона на самку. Эмбриональная смертность после имплантации 5%. Средний вес в возрасте 56 дней: у самок (23,7 ± 0,2) г, у самцов (28,3 ± 0,2) г.

SHR(And) **Поддерживается And**

Генотип*: cc,* полиморфны по локусам *A, B* и *D,* концентрация рецессивных аллелей генов окраски: *a* — 0,33, *b* — 0,24, *d* — 0,07. Родоначальники завезены из Центрального питомника «Рапполово» в 1962 г. С 1971 г. разводятся по ротационной системе, средняя величина популяции 3000 размножающихся самок и самцов, потеря гистерозиготности на поколение 0,02%. Имеют гаплотипы H-2 *(b, d, h,* s, *x* = 35%), плодовиты, у самок первой беременности среднее количество желтых тел 9,07 ± 0,17, живых эмбрионов 7,42 ± 0,20. Эмбриональная смертность после имплантации 3,4% [392, 393, 394.]. Генетическая структура колоний SHK и SHR по исследованным локусам (окраски

и *H-2)* достоверно отличается, хотя в пределах колоний сохраняется стабильность по частотам генов [390, 391, 392]. Это обстоятельство необходимо учитывать экспериментаторам при использовании нелинейных мышей.

CBWA **Поддерживается Y**

Альбиносы-тетрагибриды, получаемые скрещиванием мышей четырех линий: BALB/c, B10.CW, CC57W, A/Sn.

Генотип: *cc,* полиморфны по локусам *A, B* и *H-2.* Средний вес самок в возрасте 40 дней составляет (19,8 ± 0,1) г, самцов — (22,0 ± 0,2) г; среднее количество желтых тел на самку в первую беременность (10,44 ± 0,19), живых эмбрионов 9,44 ± 0,30. Эмбриональная смертность после имплантации около 4% [392, 393,3 94]. Тетрагибриды CBWA производятся в лаборатории генетики НЦБМТ РАМН.

Глава 13 SPF-ЖИВОТНЫЕ–БИОМОДЕЛИ

Классификация лабораторных животных по категориям дана в гл. 4, табл. 7, посвященной их стандартизации. Об условности этой классификации можно судить хотя бы по тому, что ни одна из предложенных терминологических систем не получила всеобщего признания. Поэтому в целях унификации в тексте будут использованы определения из словаря Коэйтса и Густавссона (1984) и номенклатуры ВОЗ (2001).

Конвенциональные животные являются микробиологически неопределенными биологическими системами, то есть животными, являющимися носителями различных неизвестных микроорганизмов. Такие животные могут содержаться как в стерильных, так и в обычных условиях, и являются потенциальными носителями патогенов. Можно достаточно длительное время поддерживать этих животных в хорошем состоянии здоровья, используя методы, сходные с клиническими методами (табл. 7, гл. 4).

Обычные лабораторные животные, используемые в биомедицинских исследованиях, не гнотобиоты, а просто здоровые особи. Теоретически идеальным для исследовательских целей было бы мультиассоциированное лабораторное животное-гнотобиот, то есть животное с хорошо известной «нормальной» флорой, не содержащей облигатных или факультативных патогенов, и являющееся нейтральным для исследования.

В реальности же использовать в исследованиях подобных микробиологически известных и лабораторно поддерживаемых животных невозможно ввиду их чрезвычайной дороговизны, объяснимой тем, что для поддержания гигиенического статуса животного-гнотобиота его необходимо содержать в изоляторе.

Противоположностью этому являются *SPF-животные*. SPF-животные являются носителями целого ряда неизвестных видов микроорганизмов. При этом SPF-животное свободно от одного или нескольких специфических патогенных микроорганизмов (табл. 7, гл. 4).

Таким образом, SPF-животное — это негативно определенная биологическая система, предполагающая носительство «хозяином» некоторых микроорганизмов. Это — биологическая колония различных видов неизвестных микроорганизмов, неизученных ассоциаций, в которой точно установлено отсутствие одного или нескольких видов *патогенных микроорганизмов*. До тех пор, пока SPF-статус таких животных подтверждается, они считаются клинически здоровыми.

Здоровые животные, микробиологический статус которых подтвержден (SPF-животные), являются более экономичной альтернативой гнотобиотам. Однако гнотобиотные технологии представляют наилучший способ развития базовой линии SPF-животных. В 1975 г. Дж.Э. Рейнер рекомендовал безмикробную технологию для предотвращения заражения колоний лабораторных животных. Это стало одним из методов выращивания колоний здоровых лабораторных животных.

Производство SPF-животных выглядит следующим образом. Первоначально безмикробных животных с неразвитой системой иммунной защиты ассоциируют с «коктейлем» аэробных и анаэробных микробов-симбионтов. Эта непатогенная микрофлора способствует развитию системы иммунной защиты, которая в свою очередь позволяет животным выжить вне изолятора в условиях обычного содержания. Ожидается, что животное получит из окружающей среды дополнительно некоторые непатогенные организмы, что завершит или стабилизирует кишечную флору.

Здоровью колоний лабораторных животных постоянно угрожают инфекции. Невозможно ограждать колонии животных от вторжения нежелательных организмов вечно. Для того чтобы как можно дольше или, по крайней мере, до окончания эксперимента поддерживать здоровую популяцию животных, необходимы квалифицированные научные сотрудники и подготовленный персонал.

При надлежащем оборудовании и уходе можно поддерживать удовлетворительное состояние здоровья колоний SPF-животных на протяжении нескольких лет. Но даже в оптимальных условиях статус здоровья колонии будет постепенно снижаться, что приведет к необходимости вновь создавать популяцию животных из свежего биоматериала. Перед тем как приступить к

воссозданию колонии, необходимо предварительно тщательно вычистить и продезинфицировать отсек, в котором содержались животные. Хорошо оснащенная и действенная шлюзовая система и навыки персонала являются гарантией снижения риска проникновения инфекции в отсеки размножения животных и содержания особей, предназначенных для эксперимента.

Как уже упоминалось ранее, для создания здоровой группы животных с подтвержденным микробиологическим статусом для получения племенного потомства требуются квалифицированные специалисты, высококачественное оборудование и гнотобиотная технология. При проведении работ по возобновлению популяции лабораторных SPF-животных необходимо также наличие лаборатории, осуществляющей генетический контроль (см. гл. 4, 9 и 14). Поскольку внутреннее пространство изолятора ограничено (и в него можно поместить лишь определенное количество пар для получения потомства), для воссоздания колонии необходимо отбирать животных с учетом генетического профиля имеющихся лабораторных линий и будущей колонии.

Учитывая стоимость работ и оборудования, во избежание неудачи целесообразно приобрести группу животных для размножения в зарекомендовавших себя лабораториях, например, в лаборатории генетики НЦБМТ РАМН.

В ходе работ или производства определенных видов лабораторных животных представляются необходимыми микробиологический и генетический контроль.

Микробиологический контроль

Для проведения микробиологического контроля могут применяться различные методики. В рамках этой книги невозможно дать детальное представление о них. В общем виде методы проверки могут быть сведены к некоторым обязательным моментам (см. также гл. 4 и 6).

Использование животных–«индикаторов» с известным микробиологическим статусом. Животных помещают в ту же окружающую среду, в которой находится проверяемая популяция, и периодически умерщвляют и обследуют. Голые (атимичные) мыши являются прекрасными индикаторами, поскольку у них присутствует иммунодефицит и они особенно подвержены воздействию патогенов. Но данные мыши не подходят для обнаружения изменений в серологическом титре, который может указывать на наличие вирусов, поскольку антигенный ответ у голых мышей отсутствует. Для определения серологического титра необходимо использовать животных с соответствующим иммунным статусом.

Выборка животных из популяции колонии для проведения лабораторных исследований. Это – общее посмертное микробиологическое и гистологическое обследование, выявление паразитов, и т.д. Степень и детальность проводимой проверки зависят от величины расхода вида и качества оборудования. Частота проведения проверок и количество животных, используемых в ходе

нее, определяются многими факторами; шансы обнаружить инфекцию зависят от количества проверенных животных по отношению к общему количеству особей в колонии (в процентном выражении), а также от степени распространения инфекции среди животных.

Плановая проверка животных, которые умерли или были умерщвлены, включая особей, использовавшихся для экспериментов. Такая проверка позволяет обнаружить инфекции или повреждения, угрожающие здоровью колонии и качеству проводимых экспериментов.

Генетический контроль

Описать детально в рамках данной работы процесс проведения генетического контроля не представляется возможным, для получения полной информации рекомендуем обратиться к изданиям по проблемам генетического контроля мышей и крыс ICLAS. Регулярная проверка имеющихся животных поможет выявить генетическое «заражение» от других линий или мутации, которые могут отрицательно повлиять на исследования. Подробнее принципы генетического контроля изложены в гл. 4, 5, 8 и 9.

Требования к корму для SPF-животных

Корм для SPF-животных не должен содержать насекомых, паразитов и патогенов, перед использованием его рекомендуется стерилизовать. Если стерилизация невозможна, особое внимание необходимо уделить подготовке и хранению кормов во избежание их микробного заражения.

Ингредиенты для кормов должны быть тщательно отобраны из высококачественного сырья с низким микробным показателем. Продукты животного происхождения, такие, как мясо или костная мука, могут содержать высокое количество патогенов и поэтому должны быть исключены. Оборудование и помещения для подготовки корма должны тщательно очищаться, а подготовленный корм сразу же должен быть помещен в плотно закрывающиеся емкости для защиты от паразитов.

Тепловая обработка при средней температуре эффективна для уничтожения большинства насекомых и паразитов, которыми может быть заражен корм. Подготовка при 70–80^{O} С гранулированного и сухого корма, имеющегося в продаже, является преимуществом, поскольку позволяет существенно снизить в нем количество живых организмов.

Для современной науки требуются лабораторные животные высокого качества, а это стоит дорого. Эксперименты на животных с известным микробиологическим статусом дают лучшие результаты и их реже приходиться проводить заново. Преимуществом SPF-животных также является то, что они здоровее других. Производство высококачественных лабораторных животных должно быть дополнено их содержанием в оптимальных условиях и регулярной проверкой.

Глава 14 ГНОТОБИОТНЫЕ ЖИВОТНЫЕ–БИОМОДЕЛИ

Вопрос о возможности безмикробной жизни был поднят в XIX веке Пастером. Чтобы найти ответ на этот вопрос, ученые стали разрабатывать безмикробную *технологию гнотобиотехники* и безмикробные гнотобиотные исследования, *гнотобиологию*.

С тех пор большое количество видов млекопитающих, включая обычные виды лабораторных грызунов, сельскохозяйственных животных и человека, были выращены в безмикробной среде. Целью исследований было и остается выяснение взаимодействия между животным и его ассоциированными микробами, то есть между «хозяином» и флорой, и между самими микробами, населяющими организм животного.

Безмикробные и гнотобиотические модели не являются альтернативой экспериментам с использованием обычных животных, хотя значительная часть исследователей, в том числе и автор этой книги, рассматривают безмикробных животных как объекты, пригодные для специфических исследований, а не рутинных испытаний — для этого они слишком дороги и не всегда надежны.

Использование лабораторных животных для контроля качества пищевых продуктов, лекарственных препаратов, ксенобиотиков, трансформируемых микрофлорой в токсические соединения, непрерывно растет. Одновременно повышаются и требования потребителей и контролирующих институтов к качеству, знанию долгосрочных и воз-

можных побочных эффектов, и, соответственно, безопасности их применения. С бурным развитием технологии создания генно-инженерных микро- и макроорганизмов и их продуктов решение вопроса об их выпуске в окружающую среду и широком использовании потребует тщательных испытаний на гнотобиотических моделях.

Для описания живых существ, живущих изолированно или в ассоциации с другими полностью известными видами организмов, был предложен термин *гнотобиотика* (происходящий от греческих слов *gnotos* — известный, и *bios* — жизнь), по аналогии с другими дисциплинами. В соответствии с этим гнотобиотика рассматривается как область исследований, а гнотобиота (включая безмикробных и моно-, ди-, три-, и т. д. полиассоциированных живых объектов) — как объект исследований. Накопленные данные в этой области позволили ввести более широкий термин — *гнотобиология* [440]. Термин *гнотобиология*, или точнее *гнотобиотология* (буквально: познанная жизнь), происходит от терминов *гното* и *биото* (флора и фауна).

Гнотобиотехнология представляет собой набор методов и технологий, используемых в гнотобиотных исследованиях. Гнотобиология — это производство в научных целях биологических организмов (животных, растений и людей), наличие в которых полезных или нетипичных микроорганизмов полностью известно в пределах современной диагностики. Из вышесказанного следует, что гнотобиотные животные могут быть:

безмикробными — то есть свободными ото всех видов микроорганизмов (вирусов, бактерий, грибков и паразитов), которые можно обнаружить современными методами диагностики;

моно-, ди- и полиассоциированными — в организме которых, присутствуют 1, 2 или несколько видов известных микроорганизмов (изначально безмикробное животное, заселенное одним или более видом известных микроорганизмов).

Итак, гнотобиотное животное — это позитивно определенная биологическая система, состоящая из «хозяина» и симбиотических микроорганизмов. Это биологический конгломерат видов, каждый из которых известен.

Животные-гнотобиоты должны выращиваться в изоляторах. Изолятор должен обладать некоторыми обязательными признаками:

- ✓ внутренняя поверхность и содержимое безмикробного пространства, клетки или помещения должны быть выполнены из безмикробных материалов и в них должна поддерживаться безмикробная среда;
- ✓ к внутреннему пространству изолятора и его содержимому должен быть обеспечен зрительный доступ;
- ✓ необходимо наличие специальных приспособлений для манипуляций внутри изолятора, а также для помещения в него гнотобиотного содержимого извне без риска нарушения гнотобиотных условий;

- ✓ должны быть оборудованы шлюзы для перемещения безмикробных животных и материалов в изоляторы и из них без нарушения внутренних гнотобиотных условий;
- ✓ во избежание нарушения безмикробных условий должна быть оборудована вентиляционная система, позволяющая проветривать пространство помещения и создающая внутри него положительное давление.

Производство безмикробных млекопитающих возможно благодаря тому, что эмбрион в чреве здоровой матери является микробиологически стерильным. Незадолго до окончания беременности плод может быть асептично извлечен посредством гистерэктомии или кесарева сечения и помещен в стерильный изолятор. Молодняк может быть вскормлен в изоляторе безмикробной приемной матерью или искусственным молоком, по составу приближенным к натуральному. Данная процедура на сегодняшний день редко используется в лабораториях для получения гнотобиотных мышей и крыс, поскольку они есть в продаже. Популяции гнотобиотов должны включать в себя достаточное количество особей репродуктивного возраста для поддержания генетического однообразия потомства.

Производственные масштабы, необходимые для поддержания стабильного приплода безмикробных крыс или мышей требуют больших финансовых вложений и редко укладываются в рамки бюджета большинства исследовательских лабораторий.

Безмикробные животные иных видов, нежели мыши или крысы, должны выращиваться самим потребителем. Не представляет особой сложности получение безмикробных морских свинок, поскольку их детеныши достаточно развиты на момент появления на свет и не требуют длительного (а иногда и вовсе не требуют) искусственного вскармливания. Низкие показатели выживания характерны для кроликов. Кошек, собак и некоторые виды сельскохозяйственных животных можно вырастить безмикробными, но из-за их значительного размера они представляют трудности для длительного содержания в изоляторах.

Гнотобиоты-млекопитающие

Существуют оперативные и консервативные способы получения гнотобиотических животных первой генерации. Возможно, основу этих работ составили наблюдения над особенностями развития новорожденных младенцев у человека, а также детенышей животных: щенят, котят и мышат — у животных. Ведь новорожденные являются гнотобиотами в той степени, в какой они контактировали с внешней средой после рождения и были контаминированы микроорганизмами.

Технологически для получения гнотобиотов применяются различные модификации гистерэктомии (сухой и влажной) и гистеротомии. В первом

случае извлечение матки с эмбрионами производится в асептической среде, вне изолятора, с последующей ее перевязкой в области шейки, ампутацией и переносом через бактерицидный гидрошлюз в стерильное пространство камеры изолятора. В камере плоды извлекаются и освобождаются от плодных оболочек.

Во втором случае операция осуществляется с использованием операционного блока хирургического изолятора. Операция производится изнутри изолятора через пленку операционного блока и склеенные с ней кожные покровы живота беременной самки с последующим извлечением плодов из беременной матки непосредственно в стерильное пространство камеры хирургического изолятора. Гнотобиоты необходимых инбредных линий могут быть получены путем одной из модификаций кесарева сечения с использованием лактирующей гнотобиотической самки для выкармливания новорожденных животных в изоляторе [534].

Из консервативных способов в литературе описаны методы получения гнотобиотов из взрослых особей путем обработки антибиотиками и антимикробными препаратами. Однако в настоящее время такой метод распространения не получил. В связи с коммерческой доступностью гнотобиотических животных различных видов и категорий, получение племядер из коммерческих источников остается наиболее распространенным путем получения и последующего разведения гнотобиотов.

Методы получения *поросят-гнотобиотов* включают гистерэктомию и основаны на факте непроницаемости здоровой интактной плаценты для большинства микроорганизмов. В НЦБМТ РАМН разработаны методы получения и выращивания новой категории гнотобиотов — безантигенных животных, контролируемых по антигенам микробного и животного происхождения [62]. Животные-гнотобиоты применяются для изучения некоторых аспектов респираторных болезней человека, приготовления тканевых культур, стандартных моноспецифических сывороток, изучения эффектов изменения стандартной микрофлоры, а также целого ряда иммунологических проблем.

С использованием хирургических изоляторов у свиней применялся также метод гистеротомии для получения безмикробных поросят [440, 451, 452]. Безмикробные поросята и свиньи представляют особую ценность для исследований в области иммунобиологии и патологии, учитывая отсутствие у них трансплацентарной передачи иммуноглобулинов и антител материнского происхождения [452, 611]. Кроме того, благодаря морфофункциональным сходствам целого ряда систем (кровообращения, пищеварительного тракта, кожи, сердечно-сосудистой и др.) мини-свиней с аналогичными системами и органами у человека этот вид животных находит все большее применение в моделировании заболеваний человека. В экспериментах особую ценность представляют миниатюрные породы свиней [377]. Первые ме-

тодические приемы получения *безмикробных поросят* методом гистеротомии в России были отработаны в середине 70-х гг. в лаборатории биомоделирования НЦБМТ РАМН [534].

Морские свинки были первыми животными, полученными в безмикробном состоянии еще в 1895 г. Способность к активному образу жизни и самостоятельному питанию сразу после рождения дали возможность получения и выращивания животных этого вида. Однако выращивание безмикробных морских свинок до половозрелого возраста представляет серьезную технологическую проблему, связанную с подбором адекватных диет и устранением чрезмерного растяжения слепой кишки. Последний феномен, отмечаемый у безмикробных грызунов, в значительной степени проявлялся у этого вида гнотобиотов. Поэтому размножение морских свинок в безмикробных условиях удалось получить значительно позднее, чем безмикробных крыс и мышей. В России первые эксперименты с безмикробными животными также были начаты с получения первой генерации безмикробных морских свинок в НЦБМТ РАМН.

Как показали дальнейшие наблюдения, для получения первой генерации *безмикробных морских свинок* целесообразнее выращивать их непосредственно под конкретные экспериментальные исследования, а не воспроизводить в производственных масштабах. Получение гнотобиотических морских свинок осуществляется оперативными методами. Попытки получения гнотобиотических морских свинок *путем деконтаминации* к успеху не привели. Для оперативного получения безмикробных морских свинок используют хирургические гнотобиологические изоляторы (для гистеротомии) или изоляторы, снабженные бактерицидным гидрошлюзом (для гистеротомии). Продолжительность беременности у морских свинок варьирует от 61 до 68 дней. При отборе беременных самок для операции ориентируются на объективные признаки: размягчение лонного сочленения, расхождение лонных костей на 20–22 мм.

Первые эксперименты по получению *безмикробных кроликов* были начаты в 40-х гг. XX века [542]. В России модель безмикробных кроликов была впервые получена и применена в изучении патогенеза холерной инфекции и механизмов интоксикации в конце 70-х гг. в НЦБМТ РАМН [77, 78]. Принципиально методика оперативного получения первой генерации безмикробных кроликов мало отличается от таковой для морских свинок. Поскольку беременность у крольчих длится ровно 30 дней, отбор беременных самок для операции трудностей не представляет. Обычно животных оперируют в последний день беременности. Для операции используются две модификации кесарева сечения — гистеротомия и гистерэктомия, но, учитывая преимущество местной анестезии для выживания крольчат, более предпочтителен метод гистерэктомии.

Работы по получению *безмикробных хомячков* были начаты в 1960 г. Безмикробных хомячков получают с помощью как оперативных методов, так и

методами деконтаминации. Методика кесарева сечения у беременных самок хомячков подробно описана в литературе [106]. Возможно перекрестное вскармливание новорожденных хомячков лактирующими самками других видов грызунов.

Методом селективной деконтаминации у сирийских хомячков можно освободить желудочно-кишечный тракт этих животных от кишечных жгутиковых и Pasteurella pneumotropica. Процедура включала введение с питьевой водой сульфата дигидрострептомицина (2 г/л), а также диметридазола (800 мг/л). Для устранения P. pneumotropica в защечные мешки животных вводили 0,5 мг пасты, состоящей из неомицина (27 мг/г) и дигидрострептомицина (27 мг/г). Подобная процедура продолжается 4 недели, после чего животных содержат в стерильных камерах с ламинарными потоками стерильного воздуха. Методика позволяет устранить аэробные, грамотрицательные бактерии, а также кишечные жгутиковые. Для более полной деконтаминации используют купание хомячков в бактерицидной ванне с последующим переносом в стерильный гнотобиологический изолятор. Смесь антибиотиков для деконтаминации включает (мг/дл): амфотерицин — 10, ампициллин — 50, бацитрацин — 500, хлорамфеникол — 100, колистинсульфат — 500, фузидин — 50, канамицин — 400, налидиксин — 500, неомицинсульфат — 500, пенициллин G — 100, полимиксин B — 25, стрептомицин — 250, тетрациклин — 50, триметоприм–сульфаметоксазол — 15, тилозинтартрат — 50. Методика позволяет выращивать деконтаминированных хомячков в течение ряда генераций.

Получение плотоядных лабораторных животных, к которым относятся собаки и кошки, в безмикробных условиях представляет особый интерес для экспериментальной медицины, и в частности таких ее разделов, как нормальная и патологическая физиология, инфекционная и неинфекционная патология, аллергология, токсикология, экспериментальная хирургия и др.

С середины XX в. начаты работы по получению и применению в медико-биологических экспериментах *безмикробных обезьян* [322, 674]. Для получения их в безмикробном состоянии пользовались операцией гистеротомии у беременных самок павианов с использованием хирургического пленочного изолятора Трекслера. В подобных изоляторах осуществляли и их последующее выращивание с использованием для искусственного вскармливания коммерческой диеты SMA, обогащенной железом, разведенной водой в соотношении 1:1,1. Через 1–2 дня обезьяны приучались к самостоятельному питанию. В возрасте 2 месяцев гнотобиотические обезьяны переводились на брикетированный корм, смешанный с молоком. Опыт выращивания безмикробных обезьян в течение 10 месяцев показал хорошие результаты [322].

Птицы-гнотобиоты и биориски

Методики получения гнотобиотов были также разработаны и адаптированы и в отношении других сельскохозяйственных животных и птиц. Так, описаны методы получения гнотобиотических ягнят, козлят, телят, свиней, а также гнотобиотических птиц (цыплят, перепелок, индеек, уток). Получение этих животных основано на тех же принципах, которые описаны для других лабораторных животных.

Получить *безмикробных птиц* относительно легко, но дорого — у них выше, чем у млекопитающих, риск случайного заражения. Процедура их получения детально описана. Яйца нужно брать от здоровых родителей во избежание риска инфицирования эмбриона на этой стадии. Наиболее частым источником заражения являются микроорганизмы, находящиеся под скорлупой и на ее поверхности, поэтому брать можно только яйца с абсолютно чистой скорлупой. Они помещаются в обычный инкубатор, но извлекаются оттуда за несколько дней до предполагаемого вылупления птенцов. Во время инкубационного периода яйца необходимо поддерживать в идеальной чистоте. Обращаться с яйцами можно только в перчатках, мыть или скрести нельзя, так как это может повредить их защитный слой. Инкубатор также должен быть тщательно вымыт и помещен в зону, очищенную от пыли.

За 2 дня до вылупления птенцов яйца, предварительно деконтаминировав, помещают в изолятор. На этой стадии яйца еще раз проверяют и выбраковывают те, на которых обнаружены пятнышки, трещинки или грязь. Их просвечивают и в изолятор помещают только оплодотворенные яйца. Обычно яйца помещают в шлюз, опрыскивают 2%-ным раствором уксусной кислоты и оставляют на 30 минут. Лишь после этого они могут быть помещены в изолятор. Температура в изоляторе должна быть 37–38^{O} C при относительной влажности воздуха 70–80%. Увеличить влажность можно с помощью емкостей с водой или смоченных хлопковых ватных тампонов. Для контроля условий внутри изолятора туда помещают влажный и сухой термометры. В период вылупления необходимо поддерживать достаточный доступ воздуха в изолятор.

После вылупления изолятор очищают от скорлупы и дают птенцам пищу и воду. Птенцы быстро учатся самостоятельно есть и пить. Температуру в изоляторе снижают до 35^{O} C и в течение двух недель постепенно доводят до комнатной. От перьев птиц и раскрошенной еды появляется большое количество пыли. Жидкие выделения и разлитая питьевая вода могут существенно повысить уровень влажности. Для поддержания влажности на комфортном уровне необходимо обеспечить хорошее проветривание изолятора. Выходные фильтры могут забиваться пылью и конденсированной влагой, в этом случае рекомендуется установить еще одну ступень механической очистки и

влагопоглотитель. Вместо выходных фильтров можно использовать альтернативные приспособления.

Выращивать и поддерживать популяцию гнотобиотов и безмикробных животных, как мы уже подчеркивали, — дорогостоящее занятие. Гнотобиотехнология требует высокой и узкопрофильной специализации, наличие квалифицированного персонала и многообразия специального оборудования.

Таблица 48

Вирусные инфекции цыплят, потенциально опасные для человека и животных и искажающие результаты исследований

Возбудитель	**Заболевания** ***Биориск заражения для человека и животных***	**Пути заражения**	**Контагиозность, симптоматика и исход** ***Влияние на результаты экспериментов***
Marek's disease herpesvirus (MD-V)	Болезнь Марека *Цыплята, индейки, фазаны, другие виды животных*	Воздушно-капельный	*Антитела в желтке*, высококонтагиозное заболевание и смерть
Infectious laryngo-tracheitis virus (ILT) (herpesvirus)	Инфекционный ларинго-трахеит *Цыплята, фазаны*	Воздушно-капельный	*Антитела в дейтериоплазме*, высококонтагиозное заболевание
Egg drop syndrome virus (EDS) (adenovirus)	Снижение яйценосности *Цыплята*	Оральный	*Возможны антитела и вирусы в яйцах*
Infectious bronchitis virus (IB)	Инфекционный бронхит *Цыплята*	Воздушно-капельный	*Возможны вирусы в яйцах или антитела в желтке*, высококонтагиозное заболевание
Avian encephalitis virus (AE) (picornavirus)	Энцефаломиелит *Цыплята, фазаны*	Через яйца, оральный	*Вирусы в яйце, антитела в желтке*, высококонтагиозное заболевание, смерть цыплят
Newcastle Disease virus (NDV) (paramyxovirus)	Болезнь Ньюкастла *Цыплята, фазаны, многие виды птиц, человек*	Воздушно-капельный, оральный	*Антитела в желтке, возможны вирусы в яйцах*, высококонтагиозное заболевание и смерть
Infectious bursitis virus (non-classified RNA virus)	Инфекционный бурсит *Цыплята*	Оральный	Антитела в желтке, вирусы в желтке, высококонтагиозное заболевание и смерть цыплят
Avian leucosis virus (ALV)	Комплекс лейкозов: лимфоидный лейкоз, миелобластоз, миелоцитоматоз, эритробластоз, саркоматоз, остеопетроз *Цыплята, фазаны, (в редких случаях другие птицы)*	Воздушно-капельный	*Вирусы в яйце, антитела в яйце*, высококонтагиозное заболевание и смерть

Окончание табл. 48

Возбудитель	**Заболевания** ***Биориск заражения для человека и животных***	**Пути заражения**	**Контагиозность, симптоматика и исход** ***Влияние на результаты экспериментов***
Fowl-pox virus (pigeon-, canary-, chicken-, pheasant-, quail- или Agapornidae-pox в зависимости от вида поражения)	Оспа птиц *Цыплята (другие птицы в зависимости от штамма вируса)*	Кожный	Наличие антител и вирусов в яйце точно не доказано, высококонтагиозное заболевание
Avian influenza A virus (orthomyxovirus)	Не определенные заболевания *Цыплята, гуси, фазаны, индейки (другие птицы)*	Воздушно-капельный, оральный	*Антитела в желтке, возможно наличие вирусов в яйце,* высококонтагиозное заболевание
Paramyxovirus Parainfluenza virus 2 и 3	Не определенные заболевания *Цыплята, индейки, различные виды птиц и млекопитающих, человек*	Воздушно-капельный, оральный	*Антитела в желтке, возможно наличие вирусов в яйце*
Avian reoviruses	Не определенное заболевание *Различные виды домашних и диких птиц*	Воздушно-капельный	*Синдром пониженного всасывания*, артрит, тендосиновиит, миокардит у гусят

Таблица 49

Микоплазменные и бактериальные инфекции цыплят, потенциально опасные для человека и животных и искажающие результаты исследований

Возбудитель	**Заболевания** ***Биориск заражения для человека и животных***	**Пути заражения**	**Контагиозность, симптоматика и исход** ***Влияние на результаты экспериментов***
Mycoplasma gallisepticum	Микоплазмоз *Цыплята, индейки, фазаны, перепела*	Воздушно-капельный	*Наличие возбудителя в яйце*, высококонтагиозное заболевание
Mycoplasma synoviae M. meleagridis	Инфекционные синовииты *Цыплята, индейки, фазаны, голуби*	Оральный	*Высококонтагиозное заболевание*
Mycoplasma gallinarium	Не определенные заболевания *Цыплята, индейки, фазаны, голуби*	Воздушно-капельный	*Возможно наличие возбудителя в яйце*
Pasteurella multocida	Птичья холера *Цыплята, индейки*	Оральный	Высококонтагиозное заболевание и *смерть только в случае стресса*

Окончание табл. 49

Возбудитель	**Заболевания** ***Биориск заражения для человека и животных***	**Пути заражения**	**Контагиозность, симптоматика и исход** ***Влияние на результаты экспериментов***
Salmonella gallinarium	Белая бациллярная диарея *Цыплята, почти все птицы, млекопитающие*	Оральный	Возможно наличие возбудителя в яйце, высококонтагиозное заболевание и смерть, особенно у цыплят
Haemophilus paragallinarum	Контагиозный куриный ринит *Цыплята, индейки*	Воздушно-капельный	Высококонтагиозное заболевание
Clostridium perfringens	Некротический энтерит *Различные виды животных, человек*	Оральный	Вьсококонтагиозное заболевание, в большинстве случаев латентное течение, смерть
Escherichia coli	Колибациллез *Различные виды животных, человек*	Оральный	*Высококонтагиозное заболевание, особенно в случае стресса*, важно как вторичное проникновение
Listeria monocytogenes	Листериоз *Различные виды животных, человек*	Оральный	Низкая распространенность заболевания
Mycobacterium avium	Птичий туберкулез *Цыплята, различные виды птиц и млекопитающих, человек*	Оральный, при определенных обстоятельствах воздушно-капельный	Возможно наличие возбудителя в яйце, высококонтагиозное заболевание и смерть
Staphylococcus aureus	Стафилококкоз *Цыплята, индейки, другие виды птиц*	Кожный, воздушно-капельный	Изменения кожи, артриты, иногда септицемия
Streptobacillus moniliformis	Птичий стрептобациллез *Индейки, крысы, мыши, морские свинки, кролики, человек*	Через укусы крыс (содоку или хейверхиллская лихорадка)	*Искажение результатов эксперимента*

Таблица 50

Инвазивные заболевания цыплят, потенциально опасные для человека и животных и искажающие результаты исследований

Возбудитель	**Заболевания** ***Биориск заражения для человека и животных***	**Пути заражения**	**Контагиозность, симптоматика и исход** ***Влияние на результаты экспериментов***
Eimeria spp.	Кокцидиоз *Цыплята, индейки, голуби, гуси*	Оральный	Высококонтагиозное заболевание, слабость, смерть
Histomonas meleagridis	Гистомониаз *Цыплята, индейки*	Оральный	Энтерит, гепатит *Искажение результатов эксперимента*

Окончание табл. 50

Возбудитель	**Заболевания** ***Биориск заражения для человека и животных***	**Пути заражения**	**Контагиозность, симптоматика и исход** ***Влияние на результаты экспериментов***
Ascaridia sp.	Аскаридоз *Цыплята, другие птицы*	Оральный	Высококонтагиозное заболевание, слабость
Capillaria sp.	Капилляриоз *Цыплята, индейки, фазаны, другие птицы*	Оральный, через яйцо или промежуточного хозяина	Высококонтагиозное заболевание, слабость
Heterakis gallinae	Гетеракиоз *Цыплята, другие виды птиц*	Оральный	Высококонтагиозное заболевание, слабость
Syngamus trachea	Сингамоз *Цыплята, другие виды птиц*	Оральный	Диспноэ, апатия *Искажение результатов эксперимента*
Davainea sp.	Солитерная инвазия *Цыплята, индейки, голуби*	Оральный (промежуточный хозяин)	Высококонтагиозное заболевание, слабость
Hymenolepis sp.	Глистная инвазия *Цыплята, индейки, голуби*	Оральный (промежуточный хозяин)	Высококонтагиозное заболевание, слабость
Raillietina sp.	Глистная инвазия *Цыплята, индейки, различные виды животных*	Глистная инвазия	Высококонтагиозное заболевание, слабость
Dermanyssus gallinae	Дерматит *Цыплята, различные виды птиц, человек*	Контактный	Зуд, анемия, раздражение кожи, высококонтагиозное заболевание

Иммунные ответы у гнотобиотов

Гнотобиологические модели важны в изучении истинно первичного иммунного ответа. Учитывая множественность антигенов, представление о первичном иммунном ответе, изучаемом в экспериментах на обычных (природно контаминированных) животных, справедливо подвергается сомнению, так как в большинстве случаев мы имеем дело с ранним вторичным иммунным ответом [367, 534]. Действительно, изучение ранней фазы онтогенеза иммунного ответа в присутствии уже имеющихся фоновых естественных антител у обычных, так называемых нормальных животных, представляется методологически неверным. Одним из наиболее интересных объектов для таких исследований являются безмикробные поросята, в особенности лишенные антигенного воздействия [367]. Систематические исследования онтогенеза иммунного ответа на безмикробных и безантигенных поросятах позволили понять пути развития и дифференциации иммунной системы в зависимости от антигенного воздействия. Но небходимо выделить антигензависимую стадию созре-

вания мультипотентных некоммитированных Т- и В-клеток и антигензависимую стадию их дифференциации и пролиферации. В антигеннезависимой стадии индуктивная роль в стимуляции развития стволовых клеток в Т-клетки (в тимусе) и В-клеток (в бурсо-эквивалентных условиях) отводится микрохимической среде этих органов. В то же время поликлональные активаторы В-клеток не обладают стимулирующим влиянием на иммунологически «девственные» В-клетки, полученные от безмикробных поросят [367].

Исключение антигенной стимуляции проявляется у безмикробных животных в недостаточном развитии лимфоидной ткани, клеточных и гуморальных факторов иммунитета. Лимфоидная ткань у них находится в том исходном состоянии, которое отмечается у новорожденных животных и на основе которого происходит ее дальнейшее развитие после первого контакта с микробными и другими антигенами при рождении животных. Эти различия выражены в лимфоидной ткани и лимфатических узлах, дренирующих органы и ткани, испытывающие наибольшее воздействие микроорганизмов, в частности кишечник. Так, если вес мезентериальных лимфоузлов у обычных мышей составляет около 134 мг/100 г веса тела, то у безмикробных такого же возраста этот показатель в 3 раза ниже [534].

В корковом веществе тимуса безмикробных крыс отмечается пониженное содержание лимфоцитов и отсутствие плазматических клеток. Гистологическими исследованиями лимфоидной ткани показано намного меньшее количество зародышевых центров у безмикробных животных по сравнению с обычными. При цитологических исследованиях вторичных лимфатических органов у безмикробных поросят наличие плазматических клеток выявить не удавалось. Понижены у безмикробных животных и уровни сывороточных глобулинов, что объясняется сниженной антигенной стимуляцией по сравнению с обычными животными.

Для гнотобиотов характерно недоразвитие лимфоидной ткани в лимфоидных органах, дренирующих слизистые оболочки, контактирующие с микробной средой. Это проявляется в гипоплазии перибронхиальной лимфоидной ткани и ее пониженной лимфоцитарной инфильтрации. У безмикробных животных отмечается также пониженная масса подчелюстных лимфатических узлов. Соответственно установлены и отличия в содержании клеточных элементов в лимфоидной ткани безмикробных животных. Отношение их абсолютного числа у обычных и безмикробных мышей составляет: для плазмобластов — 12,3; больших лимфоцитов — 12,3; незрелых плазматических клеток — 14,4; зрелых плазматических клеток — 8,3; средних лимфоцитов — 3,7 и малых лимфоцитов — 3,0. Различия в лимфоидной ткани у обычных и безмикробных животных проявляются и в содержании иммунокомпетентных клеток. В лимфоузлах безмикробных животных особенно снижено количество больших и средних лимфоцитов, больших пиронинофильных и плазматических клеток.

Пониженные уровни иммуноглобулинов у безмикробных животных не означают снижения иммунокомпетентности лимфоидной системы и ее способности к иммунному ответу. Образование антител у безмикробных животных наблюдается уже через 48 ч после антигенной стимуляции. После ассоциации с гексафлорой у гнотобиотических мышей отмечалось повышение концентрации сывороточных IgGl, IgG2a и IgA, причем уровни IgA и IgGl даже превышали соответствующие значения у обычных животных [496].

У безмикробных поросят в возрасте 1,5 месяцев установлены резко сниженные уровни иммуноглобулинов классов М и G, в то время как уровни IgA были одинаково низкими в сыворотке крови как у безмикробных, так и обычных поросят. Эти показатели у гнотобиотов повышались более чем в 2 раза после моноассоциации с непатогенной кишечной палочкой Escherichia coli 083. Особенно высокие уровни IgG, не отмечавшиеся у безмикробных животных, выявлялись у гнотобиотических поросят, моноассоциированных с непатогенными микроорганизмами Bifidobacterium bifidum. Показатели сывороточных фракций глобулинов и агглютининов у безмикробных животных в 1,5–3 раза ниже, чем у обычных животных. В лимфоидных элементах слизистой оболочки кишечника синтеза иммуноглобулинов не выявлено, в то время как у обычных животных, а также у гнотобиотических мышей после конвенционализации отмечается секреция в просвет кишечника иммуноглобулинов, в основном IgA класса.

В лаборатории лекарственной профилактики НЦБМТ РАМН исследовалось влияние инсулина (1 ед/100 г веса в день, в течение недели) на формирование иммунного ответа на эритроциты барана (ЭБ; 50% взвесь по 0,1 мл под подошвенный апоневроз обеих лапок) у крыс линии Wistar и крыс-гнотобиотов. В качестве контроля использованы крысы обеих групп (без инсулина).

На 3-й и 7-й день после иммунизации ЭБ в лимфоузлах и селезенке исследовали число РОК и АОК на 10^3 ядерных клеток, коэффициент плазматизации лимфоузлов и уровень гемагглютининов в крови. Результаты показали, что фоновая активность Т- и В-систем у интактных гнотобиотов несколько ниже, чем у Wistar (по числу РОК и АОК). У контрольных гнотобиотов на 3-й день после иммунизации ЭБ число РОК в лимфоузлах и селезенке было достоверно меньше ($27,8 \pm 2,9$ и $37,0 \pm 1,1$), чем у Wistar (соответственно $45,0 \pm 1,8$ и $50,1 \pm 2,1$; $P < 0,01$). На 7-й день эти величины несколько выравнивались. У крыс, получавших инсулин, во все сроки наблюдения (в обеих группах) в лимфоузлах и селезенке их число резко (вплоть до полного исчезновения) уменьшалось.

Число АОК на 10^3 ядерных клеток у гнотобиотов также было меньшим на 3-й день (в лимфоузле — $44,3 \pm 2,2$, в селезенке — $52,3 \pm 2,2$), чем у Wistar ($58,0 \pm 2,6$ и $67,8 \pm 2,1$; $P < 0,01$). Введение инсулина значительно увеличивало число АОК в лимфоузлах и селезенке крыс обеих групп: на 3-й день у

крыс Wistar их число в селезенке было равно 96,1 ± 7,1, в лимфоузлах — 178,0 ± 10,9 ($P < 0,01$); у гнотобиотов соответственно 80,0 ± 8,2 и 71,7 ± 6,0 ($P < 0,01$ в сравнении с контрольными данными). На 7-й день опыта у крыс Wistar, получавших инсулин, сохранялось увеличение числа АОК в лимфоузлах и селезенке (в сравнении с контролем $P < 0,01$), тогда как у гнотобиотов их число уменьшалось.

В лимфоузлах развивалась пролиферация клеток плазматического ряда, а в крови выявлялись гемагглютинины. Однако их различие у гнотобиотов и контрольных крыс было несущественным. Кроме того, у гнотобиотов, по сравнению с контролем, на 7-й день после иммунизации под влиянием инсулина происходит отчетливое угасание иммунного ответа, тогда как у крыс Wistar стимулирующий эффект на гуморальное звено сохраняется отчетливым ($P < 0,01$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что инсулин тормозит клеточное звено иммунитета и стимулирует гуморальное, хотя механизм такого эффекта инсулина до конца не выяснен, тем не менее, можно констатировать, что по интенсивности формирования иммунного ответа крысы-гнотобиоты значительно уступают таковому у интактных животных.

В свете приведенных данных возникает естественный вопрос: *нужны ли такие сложные биомодели, как SPF-животные и гнотобиоты?*

Этот вопрос, и не без оснований, волнует исследователей уже десятилетия. Высокая стоимость, огромная трудоемкость, высокие технологии, с одной стороны, и относительно скромные результаты — с другой, делают поставленный вопрос отнюдь не праздным. Тем не менее, опыт жизни говорит о том, что наука — это лучший бизнес, но дает выход не ранее чем через 10 лет. Действительно, многих результатов мы можем достигнуть если не на конвенциональных, то на менее дорогих и менее капризных, чем гнотобиоты, MD-животных. Но всегда ли это удаётся в полной мере?

Думаю, что каждому вдумчивому и скрупулезному исследователю становится ясно, что понимание сложнейших фундаментальных механизмов формирования иммунной защиты, интегрированной с формированием терморегуляторных процессов, воспаления, лихорадочных состояний, регенрации и ауторепарации, вряд ли достижимо без использования гнотобиотов. Иными словами, SPF-животные и гнотобиоты постепенно, но стабильно займут свою реальную нишу в научных исследованиях и биомоделировании сложнейших процессов, протекающих в организме человека на уровне систем вирус–хозяин, бактерия–хозяин и т.д., а также при поиске принципиально новых химиотерапевтических средств.